



## ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК 619:615.28.099

### ЭМБРИОТОКСИЧНОСТЬ И ТЕРАТОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА

Решетникова Т. И., к. вет. наук, доц каф. «Внутренних болезней и хирургии», факультета ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия», Любимов Александр Иванович, ректор ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, зав.каф. кормления и разведения с.-х. животных, д. с.-х. н., проф. каф. кормления и разведения с.-х. животных, зооинженерного факультета, Крылова Т.Г., к. б. н., доц. Каф. анатомии и физиологии факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА

**Ключевые слова:** мыши, плоды, эмбриотоксичность, тератогенный эффект, противовирусный препарат. **Key words:** mice, fetuses, embryotoxicity, teratogenic effect, antiviral drug.



#### РЕФЕРАТ

Целью исследования явилось изучение эмбриотоксического и тератогенного действия противовирусного препарата Триазавирин. Основная задача, это изучение данного вопроса на биологической модели - на белых мышах, получить два поколения (F1, F2) и провести анализ показателей числа, приплода, его размера и массы. Сформированы две группы по 20 голов – опытная и контрольная (F0). С первых дней беременности до родов им задавался препарат Триазавирин в дозе 0,002 г разведенный в 0,2 мл физиологического раствора. Задавался зондом, внутривентрикулярно, один раз в день. Убой 10 голов провели на 20 день, до родов, на 21 день остальные мыши родили и получили первое поколение мышат (F1). К 3-х месячному возрасту процент выживаемости мышат (F1) в опытной группе 85,93 % и в контрольной 84,61 %. Из полученного помета мышат (F1) опытной группы отбирали 15 самцов и 30 самок. Препарат не задавали. Формировали контрольную группу. Спаривали и получали новый приплод (F2). На 21 день беременные мыши родили и появилось второе поколение мышат (F2). В опытной группе в среднем на одну самку приходится 7,1 малыш, в контрольной – 7. К трехмесячному возрасту процент выживаемости мышат составил в опытной группе – 76,06 %, в контрольной – 81,43 %, разница - 5,37 % вполне допустима. При вскрытии всех поколений беременных самок и осмотре плодов наличие грубых аномалий в развитии и кровоизлияний не выявлено, плоды все живы. Введение препарата в весь период беременности (в доимплантационный период, в период имплантации и органогенеза) не вызывает эмбриотоксического и тератогенного эффекта. Не отмечалось повышения по сравнению с контролем уровня смертности плодов, значительных отклонений в показателях размера и массы новорожденных, 1-месячных и 3-месячных мышат. При вскрытии самок высокого уровня пред- и постимплантационной смертности не отмечается. При вскрытии и осмотре матки и плодов опытных групп явных видимых изменений не обнаружено.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Лекарственные препараты разных групп активно применяются в разных отраслях медицины и сельского хозяйства. Они уверенно вошли в разные сферы нашей жизни, и опасность представляет уже бесконтрольное применение, например антибактериальных препаратов и самолечение. Поэтому все новые химиотерапевтические лекарственные вещества проходят строгий контроль и подлежат сертификации. Особое внимание уделяется тератогенному и мутагенному эффектам, так как лекарственный компонент может вызвать нарушение развития плода, зародыша, и спровоцировать эффекты:

1) эмбриотоксические – внутриутробная гибель, снижение массы и развития зародышей при нормальной дифференцировке тканей;

2) тератогенные – гистоморфологические дефекты развития, биохимические, функциональные и другие нарушения функции органов и систем, проявляющиеся в постнатальном развитии [3, 4].

В следствии чего, изучение данных видов поражений актуально и в ветеринарии [7, 8].

Морфологические и функциональные отклонения у новорожденных животных выявляются в постнатальный период, поэтому важно производить исследования на токсичность в пренатальный период. Так, же необходимо наблюдать за дальнейшим развитием животных и их потомством, желательно в нескольких поколениях, с целью выявления аномалий [2, 5].

Токсическое воздействие на эмбрион химического вещества зависит во многом от срока внутриутробного развития, фармакологической активности и дозы препарата [1, 2].

Критериями оценки эмбриотоксического и тератогенного действия препарата могут служить разнообразные показатели: гибель зародышей на пред- и постимплантационных стадиях развития (эмбриональный эффект), наличие аномалий развития внутренних органов (тератогенный эффект), уровень плодови-

тости, масса и длина зародышей, диаметр и масса плаценты, индекс самцы/самки [3, 6].

Так, как при применении лекарственной терапии беременным животным возможно действие мутагенных и тератогенных факторов на плод в процессе антенатального развития, необходимы тщательные исследования в отношении безопасности каждого нового лекарственного средства [1, 6].

Целью нашего исследования свилось изучение эмбриотоксического и тератогенного действия противовирусного препарата.

Задачи: изучить данный вопрос на биологической модели - белых мышах, получить два поколения (F1, F2) и провести анализ показателей – числа, приплода, его размера и массы.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования проводились в ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА. Эксперимент ставился в на лабораторных беспородных белых мышах. Животные содержались в идентичных условиях вивария на факультете ветеринарной медицины. В опыте принимало участие 40 самок мышей, массой 20 грамм, в возрасте 2 месяца. Сформированы две группы по 20 голов – опытная и контрольная (F0) (Таблица 1). С первых дней беременности до родов опытным самкам задавался препарат Триазавирин в токсической дозе 0,002 г введенный в 0,2 мл физиологического раствора. Задавался зондом, внутрижелудочно, один раз в день. Контрольная группа получала внутрижелудочно физиологический раствор. Ежедневно проводился осмотр беременных животных, оценивалось их поведение и самочувствие. Прием препарата проходил нормально, без побочных явлений со стороны подопытных животных. Убой по 10 голов опытных и контрольных животных провели на 20 день, до родов. Нежизнеспособные малыши могут поедаться самками, что искажает результаты эксперимента. В ходе опыта исследовались несколько поколений мышей на наличие морфологических отклонений. После убоя беременных самок

Таблица 1

## Схема опыта группы мышей F0

| № п/п              | Количество мышей в группе | Доза и режим введения препарата                                                | Метод введения и сроки                                                                                                         |
|--------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Опытная группа     | 10 самок                  | 0,002 г препарата Триазавирин, разведенный в 0,2 мл физиологического раствора. | Задавался весь период беременности – 21, внутриматочно, один раз в сутки                                                       |
|                    | 10 самок                  | 0,002 г препарата Триазавирин, разведенный в 0,2 мл физиологического раствора  | Задавался 20 дней во время беременности, внутриматочно, один раз в сутки.<br>Убой беременных самок - на 20 день                |
| Контрольная группа | 10 самок                  | 0,2 мл физиологического раствора                                               | Физ. раствор задавался весь период беременности – 21, внутриматочно, один раз в сутки                                          |
|                    | 10 самок                  | 0,2 мл физиологического раствора                                               | Физ. раствор задавался 20 дней во время беременности, внутриматочно, один раз в сутки.<br>Убой самок - на 20 день беременности |

Примечание: \* -  $P \geq 0,950$ , \*\* -  $P \geq 0,990$ , \*\*\* -  $P \geq 0,999$

Таблица 2

## Данные по массе и размеру мышат (F1) в разные возрастные периоды в опытной и контрольной группах

| № п/п    | Масса новорожденных, г | Размер новорожденных, см | Масса мышат к 1-у мес. возрасту, г | Размер мышат к 1-у мес. возрасту, см | Масса мышат к 3-у мес. возрасту, г | Размер мышат к 3-у мес. возрасту, см |
|----------|------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Опыт     | 1,97±0,082             | 2,93±0,48*               | 10,3±0,42                          | 5,26±0,884***                        | 20,3±0,517472                      | 6,34±2,171*                          |
| Контроль | 2±0,08                 | 2,94±0,442*              | 10,4±0,371                         | 5,5±1,2209**                         | 20±0,494                           | 6,35±2,2*                            |

Примечание: \* -  $P \geq 0,950$ , \*\* -  $P \geq 0,990$ , \*\*\* -  $P \geq 0,999$

Таблица 3

Среднее количество мышат (F1) на одну самку в опытной и контрольной группах на разных сроках эксперимента

| № п/п    | Количество новорожденных | Количество малышей к 2-х дневному возрасту | Количество малышей к 1-у месячному возрасту | Количество малышей к 3-х месячному возрасту |
|----------|--------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Опыт     | 6,4±0,339                | 6,1±0,277                                  | 5,6±0,188*                                  | 5,5 ±0,285*                                 |
| %        | 100 %                    | 95,3 %                                     | 87,5 %                                      | 85,93 %                                     |
| Контроль | 6,5±0,402                | 6,2±0,416                                  | 5,8±0,291                                   | 5,5±0,272*                                  |
| %        | 100 %                    | 95,38 %                                    | 89,23 %                                     | 84,61 %                                     |

Примечание: \* -  $P \geq 0,950$ , \*\* -  $P \geq 0,990$ , \*\*\* -  $P \geq 0,999$

Таблица 4

Среднее количество мышат (F2) на одну самку в опытной и контрольной группах на разных сроках эксперимента

| № п/п    | Количество новорожденных | Количество малышей к 2-х дневному возрасту | Количество малышей к 1-у месячному возрасту | Количество малышей к 3-х месячному возрасту |
|----------|--------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Опыт     | 7,1±0,366                | 6,75±0,351                                 | 5,92±0,268**                                | 5,4±0,35***                                 |
| %        | 100 %                    | 95,07 %                                    | 83,38 %                                     | 76,06 %                                     |
| Контроль | 7±0,326                  | 6,5±0,261                                  | 6,08±0,31*                                  | 5,7±0,46*                                   |
| %        | 100 %                    | 92,86 %                                    | 86,86 %                                     | 81,43 %                                     |

Примечание: \* -  $P \geq 0,950$ , \*\* -  $P \geq 0,990$ , \*\*\* -  $P \geq 0,999$

вскрывались брюшная полость и матка. Осматривались рога матки, расположение плодов, плацента, пупочные канатики, кровоснабжение матки. Плоды осматривались и оценивались на жизнеспособность, производились взвешивание, измерения, регистрировали наличие аномалий. Извлеченные плоды фиксировались в 10 % формалине и окрашивались по стандартной методике гематоксилин-эозином, производились сагиттальные срезы для

изучения внутренних органов. Подобная методика позволяет оценить наличие тератогенного и эмбриотоксического эффектов и судить о нормальном развитии потомства. Остальные самки благополучно родили. После родов за животными наблюдали, оценивали физическое развитие потомства в постнатальный период. Учитывались – размер помета, число живых и погибших новорожденных мышат. Полученное потомство вновь принимало

Таблица 5

Данные по массе и размеру мышат (F2) в разные возрастные периоды в опытной и контрольной группах

| № п/п    | Масса новорожденных, г | Размер новорожденных, см | Масса мышат к 1-у мес. возрасту, г | Размер мышат к 1-у мес. возрасту, см | Масса мышат к 3-у мес. возрасту, г | Размер мышат к 3-у мес. возрасту, см |
|----------|------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Опыт     | 1,98±<br>0,081         | 2,33±<br>0,1**           | 10,02±<br>0,359                    | 5,6±<br>0,898***                     | 19,99±<br>0,468                    | 20,03±<br>0,289                      |
| Контроль | 1,91±<br>0,069         | 2,22±<br>0,138*          | 10,16±<br>0,217                    | 5,52±<br>1***                        | 19,82±<br>0,398                    | 20,7±<br>0,977                       |

Примечание: \* -  $P \geq 0,950$ , \*\* -  $P \geq 0,990$ , \*\*\* -  $P \geq 0,999$

участие в эксперименте (F1, F2). Формировали подопытные группы самок по 20 голов, препарат уже не задавали, но исследовали на выше описанные изменения. Данная методика исследования применялась к нескольким поколениям мышей – F1, F2.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У опытных самок всех трех поколений сроки беременности, течение и лактация находились в пределах физиологических значений для данного вида животных. Потомство опытных самок трех поколений развивалось стандартно, отмечалась адекватная реакция на внешние раздражители, хороший аппетит, высокая активность, поведенческие реакции и рефлексы формировались согласно возрасту.

При вскрытии беременных самок и осмотре плодов наличие грубых аномалий в развитии и кровоизлияний не выявлено, плоды все живы. В среднем одну опытную самку приходилось 7,6±0,305505 плодов, на контрольную – 7,4±0,4, средний размер плода в опыте – 2,59±0,125122 см, в контроле – 2,73±0,109595 см, масса соответственно – 1,96±0,058119 и 1,98±0,024944 г.

На 21 день остальные мыши родили и получили первое поколение мышат (F1). В опытной группе 10 самок родили всего 64 малыша, в контрольной – 65. Ко второму дню жизни в опытной группе погибло 3 мышонка, в контрольной - 3, к месячному

возрасту соответственно погибло - 5 и 4 головы, к 3-х месячному – 1 и 3 малыша. Мышат мертворожденных, а так же с внешними уродствами не выявлено (Таблица 2, 3).

Данные показатели являются вполне стандартными для данного вида животного.

К 3-х месячному возрасту процент выживаемости мышат (F1) в опытной группе 85,93 % и в контрольной 84,61 %, данные показатели являются высокими и значительными. Расхождение между показателем выживаемости в опытной и контрольных группах не существенен, имеет разницу в 1,32 % в пользу опытной группы.

Из полученного помета мышат (F1) опытной группы отбирали 15 самцов и 30 самок. Препарат не задавали. Формировали контрольную группу. Спаривали и получали новый приплод (F2). Дальнейшее исследование проводили по аналогичной схеме: 10 беременных самок умерщвляли на 20 день беременности, 20 самок рожали в срок.

При вскрытии беременных самок и осмотре плодов наличие грубых аномалий в развитии и кровоизлияний не выявлено, плоды все живы. В среднем одну опытную самку приходилось 6,6±0,452155 плодов, на контрольную – 6,2±0,249444, средний размер плода в опыте – 2,75 ±0,109798 см, в контроле –

2,72±0,133998 см, масса соответственно –1,95±0,047726 и 1,97±0,051747 г.

На 21 день беременные мыши родили и появилось второе поколение мышат (F2). В опытной группе в среднем на одну самку приходится 7,1 малыш, в контрольной – 7. Ко второму дню жизни часть малышей погибла и составило в опытной группе – 6,75, в контрольной – 6,5 мышат, к месячному возрасту соответственно – 5,92 и 6,08 головы, к 3-х месячному – 5,4 и 5,7 малыша. В пометах мертворожденных, с внешними уродствами мышат не выявлено (Таблица 4, 5).

К трехмесячному возрасту процент выживаемости мышат составил в опытной группе – 76,06 %, в контрольной – 81,43 %, разница - 5,37 % вполне допустима.

В результате проведенного эксперимента выявлено, что состояние внутренних органов опытных матерей и их потомства получавших препарат в токсической дозе, не выявило патологических отклонений (тератологических изменений).

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Введение препарата Триазавирин в весь период беременности (в доимплантационный период, в период имплантации и органогенеза) не вызывает эмбриотоксического и тератогенного эффекта. Не отмечалось повышения по сравнению с контролем уровня смертности плодов, значительных отклонений в показателях размера и массы новорожденных, 1-месячных и 3-месячных мышат.

У родившихся мышат в двух поколениях не отмечалось отклонений физического развития, сенсорно-двигательных функций, эмоционально-двигательной активности, изменения поведения, высокой летальности. При вскрытии самок высокого уровня пред- и постимплантационной смертности не отмечается. При вскрытии и осмотре матки и плодов опытных групп явных видимых изменений не обнаружено. Внутренние органы топографически расположены правильно, аномалий в развитии не выявлено.

#### **EMBRYOTOXICITY AND TERATOGENIC EFFECT OF CHEMOTHERAPEUTIC ANTIVIRAL DRUG.**

*Reshetnikova T. I., PhD in Veterinary Sciences, Associate Professor at Department of Internal Diseases and Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Izhevsk State Agricultural Academy, Lyubimov A.I., Rector of "Izhevsk State Agricultural Academy, Head of Farm Livestock Feeding and Breeding Department, Doctor of Agricultural Science, Professor at the Farm Livestock Feeding and Breeding Department, Animal Science Faculty, Krylova T. G., Docent, Faculty of Veterinary Medicine, the Izhevsk State Agricultural Academy, Candidate of Biology.*

#### **ABSTRACT**

The purpose of this study was to investigate the embryotoxic and teratogenic effects of an antiviral drug, Triazavirin. The main objective of the study was to explore this issue on a biological model – white mice, to get two generations (F1, F2) and analyze their number, offspring, its size and weight. We formed two groups of 20 mice – experimental and control (F0). From the first days of pregnancy to the delivery day the mice were treated with Triazavirin drug at a dose of 0.002 g diluted with 0.2 mL of saline solution. The drug solution was administered intragastrically with a probe, once a day. Killing of 10 mice was carried out on the 20th day, before delivery; on the 21st day other mice delivered the first generation of offspring (F1). By the age of 3 months the survival rate of mice offspring (F1) was 85.93% in the experimental group and 84.61% in the control group. 15 male mice and 30 female mice were selected out of the obtained litter (F1) in the experimental group. No drug administration to the selected mice. The control group was formed. The mice mated and delivered a new litter (F2). On the 21st day the pregnant mice delivered the second generation of offspring (F2). In the experimental group an average litter per one female mouse was 7.1, in the control group this number was 7. By the age of 3 months the survival rate in the experimental group was 76.06%, and in the control group – 81.43%, the difference of 5.37 % is quite



acceptable. During the autopsy of all generations of pregnant female mice and fetuses examination no severe development defects or hemorrhages were found, all fetuses were alive. Administration of the drug throughout the pregnancy period (during the pre-implant, implant, and organogenesis periods) causes no embryotoxic or teratogenic effects. No increase in fetal mortality rate as compared to the control rate or significant deviations in the size and weight of new-born, 1-month-old and 3-month-old mice were noticed. During the autopsy of female mice no high rate of pre- and post-implant mortality was noticed. No visible changes were found during the autopsy and examination of the female and fetuses in the experimental group.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. ГОСТ 32379-2013. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной эмбриональной токсичности (скрининговый метод). / М.: Стандартинформ, - 2014. - 10 с.
2. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных веществ / Т.А. Гуськова // Москва, - 2008. - С. 27-30.

3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
4. Смольникова, Н.М. Методические указания по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ / Н.М. Смольникова, Б.И. Любимов, А.Д. Дурнев // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., - 2005. – С. 87–100.
5. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Харбиев // М.: Медицина . 2005. 839 с.
6. Erić, M. Teratogenicity of antibacterial agents / M. Erić, A. Sabo // Collegium antropologicum. - v. 32. - № 3. – 2008. - p. 919-925.
7. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for veterinary medicinal products. Florfenicol. Summary report (1).
8. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. EMEA/MRL/497/98-FINAL. Committee for veterinary medicinal products. Lincomycin. Summary report (1).