

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-3-18-21
 УДК 619:615.065:615.275.4:616-007

ОЦЕНКА РЕПРОДУКТИВНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «ИНТЕРАМИН» В РАМКАХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

Востроилова Г.А. ORCID ID 0000-0002-2960-038X, Пархоменко Ю.С. ORCID ID 0000-0002-1460-5022,
 Хохлова Н.А. ORCID ID 0000-0001-6861-2554, Корчагина А.А. ORCID ID 0000-0002-8561-417X

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»,
 г. Воронеж, Российская Федерация

*В статье описаны результаты экспериментального исследования эмбриотоксического и тератогенного эффектов нового комбинированного препарата «Интерамин». Анализ полученных данных указывает на отсутствие при введении препарата в изученных дозах (0,1 мл/кг и 1,0 мл/кг) отрицательного воздействия на самок белых крыс в течение всей беременности, индуцирования пред- и постимплантационной гибели, общей эмбриональной смертности, патологий органогенеза и развития костной системы плодов, нарушений постнатального развития новорожденных животных. Исходя из этого, признаков эмбриотоксического и тератогенного действия препарата «Интерамин» не выявлено. **Ключевые слова:** интерамин, белые крысы, эмбриотоксическое действие, тератогенное действие, постнатальное развитие.*

ASSESSMENT OF THE REPRODUCTIVE TOXICITY OF THE DRUG INTERAMIN WITHIN THE FRAMEWORK OF PRECLINICAL TRIALS

Vostroilova G.A., Parkhomenko Yu.S., Khokhlova N.A., Korchagina A.A.

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",
 Voronezh, Russian Federation

*The article describes the results of an experimental study of the embryotoxic and teratogenic effects of the new combination drug interamin. The analysis of the data obtained indicates the absence of any negative effect on female white rats during the entire pregnancy when administered at the studied doses (0.1 ml/kg and 1.0 ml/kg), absence of induction of pre- and post-implantation death, total embryonic mortality, pathologies of organogenesis and development of the fetal skeletal system, disorders of postnatal development of newborn animals. Based on this, no signs of embryotoxic and teratogenic effects of interamin were detected. **Keywords:** interamin, white rats, embryotoxic effect, teratogenic effect, postnatal development.*

Введение. Ветеринарная медицина не обходится без применения различных лекарственных средств, в том числе в период беременности сельскохозяйственных животных, который зачастую осложняется сопутствующими заболеваниями или отклонениями жизненных показателей от физиологических норм. Но многие применяемые химиотерапевтические препараты способны преодолевать плацентарный барьер и, попадая в кровотока плода, имеют тенденцию к отрицательному влиянию, степень которого весьма различна и многофакторна [1]. Существуют промежутки времени, критические для эмбриогенеза, когда влияние неблагоприятных факторов наиболее опасно для развивающегося плода. Есть понятие тератогенного терминационного периода – определение временного предела, до которого повреждающий фактор может вызвать определенный порок эмбрионального развития [2, 3]. Медикаментозными осложнениями беременности могут стать отклонение показателя фактического многоплодия, замершие беременности, самопроизвольные выкидыши, преждевременные роды или мертворождение, развитие уродств и врожденных аномалий, при этом отрицательные последствия применения лекарственных средств могут проявляться лишь после рождения, в постнатальный период [4, 5]. Поэтому все новые оригинальные фармакологические средства в рамках доклинических исследований обязательно проверяются на наличие эмбриотоксического и тератогенного действий в той лекарственной форме и комбинации, в которой будут применяться при дальнейшем использовании в клинической практике [6].

Большим потенциалом в аспекте развития профилактической ветеринарной медицины обладают лекарственные средства природного происхождения с высокой биологической активностью. Один из них – новый комплексный препарат «Интерамин», составными частями которого являются гидрофильная криофракция селезенки крупного рогатого скота, рекомбинантные видоспецифические (бычьи) альфа- и гамма - интерфероны и витамины А, Е. Следует отметить, что по результатам изучения параметров острой и хронической токсичности, на экспериментальных животных комплексный препарат «Интерамин» можно отнести к V классу практически нетоксичных лекарственных веществ по Hodge H. et al., 1975; Сидоров К.К, 1977, и IV классу опасности – малоопасные вещества по ГОСТ 12.1.007-76 [7]. Также было показано, что изучаемый препарат не проявляет местнораздражающего и кожно-резорбтивного действий [8].

Цель настоящего исследования – изучение на белых лабораторных крысах эмбриотоксического и тератогенного действий комбинированного препарата «Интерамин».

Материалы и методы исследований. Изучение эмбриотоксического и тератогенного действий комбинированного препарата «Интерамин» осуществлялось в условиях вивария ФГБНУ «ВНИВИП-ФиТ». Условия экспериментов с участием лабораторных животных (белых крыс) соответствовали указаниям соответствующих нормативных документов и требованиям, определяемым биоэтической комиссией ФГБНУ «ВНИВИПФиТ».

Оценку влияния интерамина на антенатальное развитие крыс провели на 24 половозрелых самках крыс массой тела 220-240 г и 8 самцах того же возраста весом 230-250 г. В клетки к самкам, находящимся в благоприятной для наступления беременности фазе полового цикла (стадии эструса и проэструса), на ночь подсаживали самцов (из расчета один самец на 3 самки). Следующий день, утром которого обнаруживали спермии во влагалищном мазке самок, считали первым днем беременности.

Самок разделили на три группы – контрольную (n=8) и две опытные (по n=8). Животным первой опытной группы с первого дня беременности и в течение всего периода беременности (21-22 дня) вводили внутримышечно препарат «Интерамин» в условной терапевтической дозе – 0,1 мл, второй – в те же сроки в 10 раз большей дозе – 1,0 мл. Животным контрольной группы применяли стерильный изотонический раствор натрия хлорида в эквивалентной дозе. За самками всех групп ежедневно вели клиническое наблюдение.

Для определения эмбриотоксического действия препарата на 19-20-й день беременности 50% самок из каждой группы подвергали эвтаназии в специальной камере путем передозировки углекислого газа. Проводили лапаротомию с экстирпацией матки, вскрывали маточные рога, обследовали плаценту и плоды, проводили осмотр и подсчет в яичниках числа желтых тел беременности, в матке – числа мест имплантации, живых, мертвых и резорбированных зародышей, оценивали равномерность расположения плодов. Регистрировали наличие каких-либо внешних аномалий развития зародышей, массу и размер плодов и плаценты. Расчет показателей общей эмбриональной смертности, предимплантационной гибели, постимплантационной гибели и внутриутробной выживаемости эмбрионов производили по формулам за авторством А.М. Малашенко и И.Е. Егорова [9]:

Общая эмбриональная смертность (%)	=	$\frac{\text{Число желтых тел беременности} - \text{Число живых эмбрионов}}{\text{Число желтых тел беременности}}$	× 100
Предимплантационная гибель эмбрионов (%)	=	$\frac{\text{Число желтых тел беременности} - \text{Число мест имплантации}}{\text{Число желтых тел беременности}}$	× 100
Постимплантационная гибель эмбрионов (%)	=	$\frac{\text{Число мест имплантации} - \text{Число живых эмбрионов}}{\text{Число мест имплантации в матке}}$	× 100
Внутриутробная выживаемость (%)	=	$\frac{\text{Число живых эмбрионов}}{\text{Число желтых тел беременности}}$	× 100

Оценку тератогенного действия интерамина проводили посредством фиксации нарушений органогенеза во внутриутробном периоде развития и изменений костной системы плода. Для этого на девятиуровневых микроанатомических срезах изучали состояние внутренних органов и головного мозга у эмбрионов в материале, выдержанном сначала 7 дней в жидкости Буэна, а затем перенесенном в 70° спирт. Аномалии скелета и процесса окостенения выявляли с помощью метода Доусона в модификации А.П. Дыбана с соавторами [10].

Для суждения о влиянии нового препарата в течение 4 недель после естественных родов в постанатальном периоде наблюдали за развитием потомства от 50% оставшихся самок, участвовавших в опыте. Сразу после рождения крысят фиксировали число живых и мертвых плодов, наличие каких-либо внешних аномалий и пороков развития. Следили за динамикой массы тела, краниокаудального размера, степенью общефизического развития, в частности, за сроками отлипания ушных раковин, появлением волосяного покрова, прорезыванием резцов, открытием глаз, опусканием семенников, открытием влагалища.

Результаты проведенных исследований обрабатывали общепринятыми методами. Степень достоверности различий показателей в группах контроля и опыта рассчитывали по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследований. Установлено, что у контрольных самок в яичниках образовалось от 12 до 14 желтых тел беременности (таблица 1). При этом из общего количества имплантированных плодов 10,4-12,4% оказались мертвыми. Гибель плодов до имплантации достигла 12,0-15,3%, что находится в пределах физиологической нормы (И.П. Западнюк с соавт., 1974).

Таблица 1 – Эмбриотоксическое действие интерамина

Показатели	Контроль	Опыт	
		Доза интерамина, мл/кг	
		0,1	1,0
Количество желтых тел на одну самку	12,1±0,31	12,2±0,23	12,2±0,18
Количество мест имплантации на 1 самку	10,6±0,34	10,7±0,12	10,9±0,21
Количество живых эмбрионов на 1 самку	9,6±0,19	9,90±0,23	10,1±0,08
Количество мертвых эмбрионов на 1 самку	1,0±0,16	0,8±0,11	0,8±0,17
Общая эмбриональная смертность, %	20,3±1,24	18,5±1,29	17,5±0,68
Постимплантационная гибель, %	9,41±1,29	7,48±1,23	7,45±1,48
Предимплантационная гибель, %	12,0±2,34	11,9±1,11	10,9±1,09
Внутриутробная выживаемость, %	90,6±1,24	92,5±1,23	92,5±1,48

Препарат в дозах 0,1 и 1,0 мл/кг массы тела не оказал достоверного влияния на все изучаемые показатели состояния эмбрионов. Так, в группе животных, получавших интерамин в дозе 1,0 мл/кг массы тела, количество живых эмбрионов в среднем на одну самку было на 2,8% больше, чем у контрольных самок. Результаты изучения эмбрионального материала свидетельствуют о том, что препараты снижают постимплантационную смертность в среднем до 2,0%. Величина предимплантационной гибели в опытных группах была близка к уровню данного показателя в группе контрольных животных (таблица 1). В целом, общая эмбриональная смертность при введении препарата снижалась на 8,8% (0,1 мл/кг) и на 13,7% (1,0 мл/кг).

При применении интерамина количество живорожденных крысят возросло на 2,7%, средняя масса их увеличилась на 5,4%. У исследованных плодов не обнаружено отклонений от нормы в строении внутренних органов, нарушений развития костной системы, а также изменения массы и краниокаудальных размеров плодов (таблица 2). Таким образом, можно заключить, что изучаемый препарат не обладает тератогенным действием.

Таблица 2 – Тератогенное действие интерамина

Показатели	Контроль	Опыт	
		Доза, мл/кг	
		0,1	1,0
Среднее число живорожденных крысят на 1 самку	8,70±0,54	11,4±0,41	12,2±0,29
Среднее число мертворожденных крысят на 1 самку	0,81±0,03	0,64±0,07	0,51±0,04*
Средняя масса тела новорожденного крысенка, мг	3149,1±73,9	3233,4±65,8	3196,2±92,0
Средняя длина туловища крысенка, мм	31,0±0,53	32,2±0,30	32,9±0,18
Средняя масса плаценты, мг	382,4±0,91	390,9±0,32	388,5±0,69
Средняя длина плаценты, мм	12,23±1,15	12,40±2,09	12,33±1,42
Пороки, аномалии развития внутренних органов и скелета	нет	нет	нет

Примечание. * - $p < 0,05 - 0,001$ (по сравнению с контролем).

Заключение. Анализ полученных данных показал, что внутримышечное введение самкам белых крыс на всем протяжении беременности нового комбинированного препарата в изученных дозах (условной терапевтической – 0,1 мл/кг, и в 10 раз ее превышающей – 1,0 мл/кг) – не оказывало эмбриотоксического и тератогенного эффектов – не зафиксировано негативного влияния на самок

белых крыс в период беременности, отклонений соотношения показателей числа желтых тел беременности, мест имплантации и живых плодов по сравнению с контрольными значениями, несоответствий морфометрических параметров плодов и аномалий их развития. Более того, показано снижение показателей постимплантационной гибели эмбрионов и общей эмбриональной смертности, а также повышение количества живорожденных животных на 1 самку с увеличением средней массы новорожденного на фоне применения препарата «Интерамин».

Conclusion. The analysis of the data obtained showed that intramuscular administration of a new combination drug to female white rats throughout pregnancy at the studied doses (conditionally therapeutic - 0.1 ml/kg, and 10 times higher than it - 1.0 ml/kg) did not have embryotoxic and teratogenic effects. There was no negative effects on female white rats during pregnancy, deviations in the ratio of indicators of the number of corpora lutea of pregnancy, implantation sites and live fetuses, compared with the control values, inconsistencies in morphometric parameters of fetuses and anomalies in their development. Moreover, there was a decrease in the rates of postimplantation embryonic deaths and total embryonic mortality, as well as an increase in the number of live-born animals per 1 female with an increase in the average weight of a newborn against the background of the use of interamin.

Список литературы. 1. Embryotoxic and teratogenic effects of norfloxacin in pregnant female albino rats / M. Aboubakr [et al] // *Advances in Pharmacological Sciences*. – 2014. – V. 2014. – Article ID 924706. – 6 p. - doi.org/10.1155/2014/924706. 2. Тератогенное влияние лекарственных препаратов на эмбриональное развитие плода / А.А. Тарханов [и др.] // *Международный научно-исследовательский журнал*. - 2022. - № 5-2 (119). - С. 173-177. DOI: 1.0.23670/IJR.2022.119.5.032. 3. Валькович, Э. И. Тератогенез и тератогенность / Э. И. Валькович // *Педиатр*. - 2010. – Т.1. - №1. – С.13-15. 4. Эмбриотоксическое и тератогенное действие мальбцинката / У.Р. Раджабов [и др.] // *Kishovarz*. - 2019. - № 3. - С. 90-92. 5. Кучинский, М. П. Изучение эмбриотоксического, тератогенных свойств и эпикутанного действия экспериментального образца ветеринарного препарата "Кальцемагфосвит" / М. П. Кучинский, А. А. Сонов // *Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария*. - 2019. - № 1. - С. 75-79. 6. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А. Н. Миронов. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с. 7. Востроилова, Г. А. Токсикометрическая характеристика комплексного препарата с иммунотропной активностью / Г. А. Востроилова, Ю. С. Пархоменко, Н. А. Хохлова // *Ветеринарный фармакологический вестник*. - 2022. - № 2 (19). - С. 21-33. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.2.21. 8. Пархоменко, Ю. С. Характеристика местнораздражающего и кожно-резобтвнного действий препарата интерамин / Ю. С. Пархоменко // *Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства : материалы V Международной научно-практической конференции*. - 2022. – Т.1. - С.72-76. 9. Малащенко, А. Е. Доминантные летали у инбрендных мышей под действием этиленмина / А. Е. Малащенко, И. Е. Егоров // *Генетика*. - 1967. - № 3. - С. 59-68. 10. Дыбан, А. П. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ / А. П. Дыбан, В. С. Баранов, И. М. Акимова // *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. - 1970. - Т.59, № 10. - С. 89-100.

References. 1. Embryotoxic and teratogenic effects of norfloxacin in pregnant female albino rats / M. Aboubakr [et al] // *Advances in Pharmacological Sciences*. – 2014. – V. 2014. – Article ID 924706. – 6 p. - doi.org/10.1155/2014/924706. 2. Teratogennoye vliyaniye lekarstvennykh preparatov na embrionalnoye razvitiye ploda / A.A. Tarkhanov [i dr.] // *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. - 2022. - № 5-2 (119). - S. 173-177. DOI: 1.0.23670/IJR.2022.119.5.032. 3. Valkovich, E. I. Teratogenez i teratogennost / E. I. Valkovich // *Pediatr*. - 2010. – Т.1. - №1. – С.13-15. 4. Embriotoksicheskoye i teratogennoye deystviye malbtsinkata / U.R. Radzhabov [i dr.] // *Kishovarz*. - 2019. - № 3. - S. 90-92. 5. Kuchinskiy, M. P. Izucheniye embriotoksicheskikh, teratogennykh svoystv i epikutannogo deystviya eksperimental'nogo obraztsa veterinarnogo preparata "Kaltsemagfosvit" / M. P. Kuchinskiy, A. A. Sonov // *Epizootologiya, immunobiologiya, farmakologiya i sanitariya*. - 2019. - № 1. - S. 75-79. 6. Mironov, A. N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast pervaya / A. N. Mironov. – M. : Grif i K. 2012. – 944 s. 7. Vostroilova, G. A. Toksikometricheskaya kharakteristika kompleksnogo preparata s immunotropnoy aktivnostyu / G. A. Vostroilova, Yu. S. Parkhomenko, N. A. Khokhlova // *Veterinarnyy farmakologicheskiy vestnik*. - 2022. - № 2 (19). - S. 21-33. - DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.2.21. 8. Parhomenko, YU. S. Harakteristika mestnorazdrazhayushchego i kozhno-rezobtivnogo deystvij preparata interamin / YU. S. Parhomenko // *Prioritetnye vektory razvitiya promyshlennosti i sel'skogo hozyajstva : materialy V Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii*. - 2022. – Т.1. - S.72-76. 9. Malashenko, A. E. Dominantnye letali u inbrendnyh myshej pod deystviem etilenimina / A. E. Malashenko, I. E. Egorov // *Genetika*. - 1967. - № 3. - S. 59-68. 10. Dyban, A. P. Osnovnye metodicheskie podhody k testirovaniyu teratogennoj aktivnosti himicheskikh veshchestv / A. P. Dyban, V. S. Baranov, I. M. Akimova // *Arhiv anatomii, gistologii i embriologii*. - 1970. - T.59, № 10. - S. 89-100.

Поступила в редакцию 01.08.2022.