

УДК 619:615.9:616-008.9

Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор
Сонов А.А., научный сотрудник

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелецкого», г. Минск

ИЗУЧЕНИЕ ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИХ, ТЕРАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ И ЭПИКУТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «КАЛЬЦЕМАГФОСВИТ»

Резюме

В статье приводятся результаты доклинических исследований по токсикологической оценке экспериментального образца ветеринарного препарата «Кальцемагфосвит», проведенных на лабораторных животных – белых крысах и кроликах. Установлено, что созданная фармацевтическая композиция не оказывает негативного влияния на развитие потомства белых крыс в пре- и постнатальный периоды развития, а также не обладает местно-раздражающим и кожно-резорбтивным действием.

Summary

The article presents the results of preclinical studies on the toxicological evaluation of an experimental sample of the veterinary drug «Kalcemagfosvit» conducted on laboratory animals – white rats and rabbits. It was established that the created pharmaceutical composition does not have a negative impact on the development of the offspring of white rats in the pre- and postnatal periods of development, and also does not have a local irritant and skin-resorptive effect.

Поступила в редакцию 14.03.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Основная задача АПК Республики Беларусь – получение безопасной и качественной животноводческой продукции. Для увеличения её объемов в последнее десятилетие активно идет процесс интенсификации производства, увеличивается поголовье скота. Стремление к постоянному росту продуктивности как молочного, так и мясного поголовья крупного рогатого скота на животноводческих комплексах обуславливает также и увеличение частоты проявления заболеваний различного генеза, среди которых преобладают те, которые связаны с недостаточностью биоэлементов и нарушениями минерального обмена. Известно, что макро- и микроэлементы играют исключительно важную роль в организме и необходимы для обеспечения здоровья, нормального роста и развития животных [1, 2]. Поэтому недостаток биоэлементов приводит не только к нарушениям всех типов обмена веществ, но и к возникновению специфических заболеваний различных органов и систем, в частности репродуктивной, а также к снижению количе-

ства и качества получаемой продукции.

Для устранения дефицита минеральных веществ в организме продуктивных животных актуально применение парентеральных ветеринарных препаратов, использование которых позволяет быстро нормализовать биоэлементный баланс и профилактировать возникновение гипомикроэлементозов [3, 4].

Ветеринарные препараты, применяемые в животноводстве, должны быть не только эффективными в лечении животных и профилактике конкретных заболеваний, но и соответствовать современным требованиям безопасности, так как от этого во многом зависит качество и биологическая ценность получаемой продукции. С учетом этого оценка безопасности создаваемых ветеринарных препаратов является важнейшим этапом доклинических испытаний.

Одним из этапов доклинической оценки нового ветеринарного препарата является определение его тератогенной и эмбриотоксической активности, а также оценка кожно-резорбтивного действия на

лабораторных животных. Эти исследования необходимы для оценки возможного токсического влияния лекарственного средства на эмбрионы животных, а также на развитие молодняка в постнатальный период развития. Ввиду того, что некоторые действующие вещества препаратов могут вызывать преждевременные аборт, аномалии развития плода и уродства, высокую смертность после рождения и в первые месяцы жизни, результаты таких испытаний являются основополагающими в определении дальнейшей судьбы экспериментальных образцов препаратов.

Также важным этапом в процессе проведения доклинических исследований новых фармакологических композиций и препаратов является определение их кожно-резорбтивного действия, что позволяет выявить возможное негативное системное влияние на организм и кожные покровы, а также определить степень этих повреждений.

Целью настоящих исследований явилось определение эмбриотоксического и тератогенного действия экспериментального образца нового ветеринарного препарата «Кальцемагфосвит» на основе макроэлементов на лабораторных животных, а также изучение его местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились на базе отдела токсикологии и незаразных болезней животных, вивария РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Изучение тератогенного и эмбриотоксического влияния экспериментального образца препарата «Кальцемагфосвит» проводили согласно изданию «Ветеринарная токсикология с основами экологии» (Москва, 2005) [5]. Оценку кожно-резорбтивного и местно-раздражающего действия осуществляли в соответствии с нормативным документом «Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» (Минск, 2007) [6].

Опыт по изучению влияния кальцемагфосвита на эмбрионы и плоды проводили на 40 половозрелых белых крысах массой тела 180–200 г. Из самок было сформировано 2 опытные и 2 контрольные группы по 10 голов. Для спаривания к каждому самцу вечером подсаживали 3 самки. Утром следующего дня исследовали влагалищные мазки. День обнаружения спермиев в мазке считали первым днем беременности.

Кальцемагфосвит вводили крысам в максимально переносимой дозе, не вызывающей гибели животных, – 15625 мг/кг массы тела. При ее выборе использовали данные, полученные при определении острой токсичности на белых крысах (ЛД₅₀ составило 20000 мг/кг). Препарат вводили подкожно, однократно: животным первой опытной группы – на 5-й день беременности (период имплантации), второй опытной группы – на 10-й день беременности (период органогенеза). Животным первой и второй контрольных групп на 5-й и 10-й дни беременности вводили воду для инъекций в объеме 2,0 мл. За животными всех групп велось ежедневное клиническое наблюдение.

Для выявления возможного эмбриотоксического и тератогенного эффекта в опытных и контрольных группах было эвтаназировано на 20-й день беременности по 5 самок. После их вскрытия проводилось исследование матки, плацент, плодов и подсчет их количества, определение числа желтых тел беременности, количества мест имплантации в матке, а также живых и мертвых плодов. Плоды переносили в чашки Петри и исследовали под лупой с целью выявления уродств.

Для оценки возможного влияния препарата в постнатальном периоде было получено потомство от оставшихся самок из каждой группы, за которым вели клиническое наблюдение в течение 1-го месяца. При этом учитывали двигательную активность, физическое развитие, сроки открытия глаз, появление шерстного покрова [5].

Определение кожно-резорбтивного действия экспериментального образца пре-

парата на основе макроэлементов проводили «пробирочным» методом на 16 белых крысах живой массой 150–170 г. Для этого животных разделили на две равные группы – контрольную и опытную. Животных обеих групп индивидуально фиксировали в горизонтальном положении с помощью специального устройства, при этом хвосты крыс опытной группы погружали в пробирки, заполненные на 2/3 экспериментальным образцом препарата «Кальцемагфосвит», в контрольной группе – дистиллированной водой (фото 1).



Фото 1. – Фиксация крысы в горизонтальном положении

Экспозиция составляла 4 часа. Учет результатов проводили через 1 и 16 часов после окончания опыта, а наблюдение за клиническим состоянием вели в течение 14 суток.

При оценке влияния кальцемагфосвита на слизистые оболочки и орган зрения препарат наносился в нативном виде в нижний конъюнктивальный свод правого глаза однократно в количестве 100 мкл. Левый глаз при этом служил в качестве контроля, в него вносили дистиллированную воду – 2 капли. При внесении препарата оттягивали внутренний угол конъюнктивного мешка и в течение минуты прижимали слезно-носовой канал. Визуальное наблюдение проводили в первые сутки ежедневно в течение 8 часов, в дальнейшем – 1 раз в день в течение 14 дней.

Местно-раздражающее действие кальцемагфосвита исследовали на 4 белых кроликах. При этом на выбритые участки кожных покровов размером 2х3 см равномерно наносили препарат в жидком виде в объеме 0,1 мл. Перед этим в местах нанесения измеряли толщину кожной складки, затем протирали раствором этилового спирта для удаления жира и грязи. Через 5–10 минут наносили препарат открытым способом на правый бок животного при температуре в помещении 23 °С. Левый выбритый участок служил контролем и на него наносилась дистиллированная вода.

Реакцию кожи регистрировали через 1 и 16 часов после нанесения препарата. В дальнейшем за животными вели наблюдение в течение 2 недель, оценивая состояние кожи, общий клинический статус животных, характер потребления корма и воды, а также время возникновения клинических признаков интоксикации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

После вскрытия лабораторных животных, находящихся в опыте по определению эмбриотоксичности и тератогенности, установлено, что количество плодов у самок первой и второй опытных групп составило 51 и 53, в контрольных группах – 49, 50 соответственно (фото 2).



Фото 2. – Матка крысы с плодами на 20-й день беременности

Количество мест имплантации у самок опытных и контрольных групп совпадало с количеством плодов (таблица 1).

Таблица 1. – Влияние препарата «Кальцемагфосвит» на развитие потомства белых крыс в пренатальный период

Показатели	Группы животных			
	опытная		контрольная	
	1 (n=5)	2 (n=5)	1 (n=5)	2 (n=5)
Количество мест имплантации	51	53	49	50
Аномалии развития внутренних органов и скелета	—*	—	—	—
Уродства	—	—	—	—

Примечание – *отсутствие указанных изменений

При исследовании плодов в чашках Петри под лупой аномалий глаз (анопthalmия, микроphthalmия и др.), мозга (мозговой грыжи и др.) черепа (заячья губа, волчья пасть и др.), конечностей, пальцев,

хвоста, позвоночника, передней брюшной стенки не выявлено, что подтверждает отсутствие эмбриотоксического и тератогенного действия препарата на эмбрионы крыс (фото 3, 4).



Фото 3. – Плодный мешок с плодом на 20-й день беременности



Фото 4. – Плод крысы на 20-й день беременности

Результаты наблюдений за рожденными крысятами показали, что во всех опытных группах в постнатальный период

уродств и мертворожденных животных не наблюдали (таблица 2).

Таблица 2. – Влияние препарата «Кальцемагфосвит» на развитие потомства белых крыс в постнатальный период

Показатели	Группы животных			
	опытная		контрольная	
	1 (n=5)	2 (n=5)	1 (n=5)	2 (n=5)
Количество мест имплантации	53	50	48	49
Аномалии развития внутренних органов и скелета	—*	—	—	—
Уродства	—	—	—	—

Примечание – *отсутствие указанных изменений

У новорожденных отмечали нормальную двигательную активность, хороший сосательный рефлекс, целостные кожные покровы. Опушение крысят начиналось в среднем на 9–10-й дни во всех группах, глаза открывались на 15–16-й дни. Во время наблюдений за рожденными крысятами в течение 2 месяцев отклонений в развитии и физиологическом состоянии выявлено не было.

Таким образом, препарат, применяемый в дозе 15625 мг/кг в различные сроки беременности (периоды имплантации и органогенеза), не вызывает патологических изменений у беременных крыс, а также отклонений в развитии потомства, что свидетельствует об отсутствии у препарата тератогенных и эмбриотоксических свойств.

При проведении опыта по определению кожно-резорбтивного действия экспериментального образца препарата «Кальцемагфосвит» установлено, что препарат не оказал патологического действия на кожу крыс в опытной группе, поскольку отсутствовала гиперемия, изъязвления, дерматит и т.д. Также не наблюдалось симптомов системной интоксикации организма. Клиническое состояние животных в обеих группах оставалось удовлетворительным в течение 14 суток наблюдения после окончания опыта.

При нанесении препарата на слизистую оболочку глаза кроликов патологиче-

ские реакции отмечались у двух животных в течение 25–30 минут, при этом появлялась слабовыраженная гиперемия слизистой оболочки, которая проходила через 30 минут. В дальнейшем при наблюдении за животными признаков поражения слизистых оболочек и органа зрения: хемоз, симблефарон, синехии, отек век, отек и язва роговицы, выраженная инъекция сосудов конъюнктивы и склеры, эпифора – не наблюдались в течение 14 дней после начала опыта.

При анализе результатов опыта по изучению местно-раздражающего действия экспериментального образца препарата признаков интоксикации организма и поражения кожи обнаружено не было как в первые сутки, так и на протяжении всего срока наблюдения.

ВЫВОДЫ

Согласно данным, полученным при проведении доклинических испытаний на лабораторных животных, можно сделать следующие выводы:

1. Экспериментальный образец препарата «Кальцемагфосвит» не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием.
2. Испытуемый образец не оказывает кожно-резорбтивного действия.
3. Кальцемагфосвит обладает слабо выраженным раздражающим действием на слизистые оболочки и орган зрения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучинский, М.П. Биозлементы – фактор здоровья и продуктивности животных / М.П. Кучинский. – Минск: Бизнесофсет, 2007. – С. 372.
2. Кучинский, М.П. Биозлементный статус организма сельскохозяйственных животных хозяйств Республики Беларусь, способы и средства его коррекции / М.П. Кучинский // Экология и животный мир. – 2014. – № 2. – С. 37–45.
3. Лавриков, В.И. Современные тенденции интенсификации животноводства в свете реализации приоритетного национального проекта «РАЗВИТИЕ АПК» / В.И. Лавриков // Национальные интересы: приоритеты и безопасность. – 2010. – С. 11–18.
4. Вериго, Ю.В. Исследование фармакодинамических эффектов комплексного минерального препарата «ГЕКСАМИН» / Ю.В. Вериго, М.П. Кучинский // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2012. – С. 79–84.
5. Ветеринарная токсикология с основами экологии / М.Н. Аргунов [и др.]: учеб. пособ.; под ред. М.Н. Аргунова. – М.: Колос, 2005. – С. 191–215.
6. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / Э.А. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – С. 26–30.