



Поступила в редакцию 07.03.2017
Принята в печать 19.08.2017

УДК 619:615.015.5
DOI:

Для цитирования:

Напалкова В. В., Бирюкова Н. П. Оценка эмбриотоксических и тератогенных свойств триклабендазола суспензии // Российский паразитологический журнал. – М., 2017. – Т. 41, Вып. 3. – С. 277–281.

For citation:

Napalkova V. V., Biryukova N. P. Evaluation of embryotoxic and teratogenic properties triclabendazole suspension. Russian Journal of Parasitology, 2017, V. 41, Iss. 3, pp. 277–281.

ОЦЕНКА ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИХ И ТЕРАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ТРИКЛАБЕНДАЗОЛА СУСПЕНЗИИ

Напалкова В. В., Бирюкова Н. П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), 123022, Москва, Звенигородское шоссе д. 5, e-mail: kanc@vgnki.ru

Реферат

Цель исследования – изучить эмбриотоксические и тератогенные свойства антигельминтика «Триклабендазол суспензия 5 %» на белых беспородных крысах.

Материалы и методы. Опыты проводили на 72 беременных белых крысах массой 235–260 г, из которых сформировали 3 опытные (по 16 беременных самок) и три контрольные (по 8 беременных самок) группы. Крысам 1, 2 и 3-й групп вводили суспензию препарата в желудок в дозе 36 мг/кг (трехкратная терапевтическая доза для крупного рогатого скота) в критические периоды эмбриогенеза соответственно по следующей схеме: с 1 по 7-е сутки беременности, с 8 по 14-е и с 1 по 19-е сутки беременности. Контрольным животным в эти сроки вводили физиологический раствор в соответствующем объеме. Для выявления эмбриотоксического действия препарата учитывали предимплантационную гибель зигот (разность между числом желтых тел в яичниках и числом мест имплантации в матке от общего числа желтых тел в процентах), постимплантационную гибель эмбрионов (разность между числом мест имплантации и числом живых плодов в матке от числа мест имплантации в процентах) и общую эмбриональную смертность (разность между числом желтых тел беременности и живыми плодами от числа желтых тел в яичниках в процентах). Тератогенное действие препарата оценивали по нарушениям органогенеза во внутриутробном периоде и изменениям костной системы плода.

Результаты и обсуждение. Общее состояние и поведение крыс, получавших триклабендазол суспензию 5 % во все сроки беременности, оставалось без изменений. Животные охотно потребляли корм и воду, адекватно реагировали на внешние раздражители. Триклабендазол суспензия 5 % в дозе 36 мг/кг по ДВ при внутривнутробном введении крысам в критические периоды беременности не индуцирует предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности, не вызывает нарушений органогенеза во внутриутробном периоде и изменений костной системы плода.

Ключевые слова: триклабендазол, суспензия, крысы, тератогенное и эмбриотоксическое действие.

Введение

Некоторые токсические вещества при поступлении в организм животных вместе с кормом или в качестве лекарственных средств могут отрицательно влиять на репродуктивную функцию животных, вызывая эмбриотоксическое, тератогенное, гонадотоксическое действие. По этой причине эти токсические вещества, особенно те, которые используют многократно, необходимо исследовать на эмбриотоксичность, тератогенность и гонадотоксичность [3].

Триклабендазол суспензия – антигельминтный лекарственный препарат для орального применения, предназначенный для лечения и профилактики фасциоза у жвачных животных.

Метаболизируясь в организме животных подобно другим сульфидным бензимидазолам, триклабендазол окисляется до сульфона и сульфоксида. Учитывая, что ряд соединений бензимидазольной группы обладает эмбриотропным действием, в задачу наших исследований входило изучение репродуктивной токсичности препарата [5, 6].

Целью исследования было изучение эмбриотоксического и тератогенного действия антигельминтика «Триклабендазол суспензия 5 %» на белых беспородных крысах.

Материалы и методы

Исследования по изучению тератогенного и эмбриотоксического действия триклабендазола суспензии 5 % проводили в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (2005) [4] и «Методическими указаниями по тестированию тератогенной активности химических веществ» [1, 2].

В опытах использовано 72 беременные самки белых крыс массой 235–260 г и 18 самцов, которых содержали раздельно.

К самкам в стадии эструса и проэструса на ночь подсаживали самцов из расчета один самец на четыре самки. Обнаружение спермиев во влагалищном мазке на следующее утро принимали за первые сутки беременности. Из отобранных беременных самок сформировали три опытные (по 16 самок) и одну контрольную (8 самок) группы.

Беременным крысам суспензию триклабендазола вводили в желудок в трехкратной терапевтической дозе 36 мг/кг в критические периоды эмбриогенеза по следующей схеме: с 1 по 7-е сутки беременности (1 группа); с 8 по 14-е (2 группа) и с 1 по 19-е сутки беременности (3 группа). Контрольным животным в эти сроки вводили физиологический раствор в соответствующем объеме.

Наступление беременности подтверждали при исследовании влагалищных мазков самок на 4–5 и 10–11-е сутки после оплодотворения. Во время эксперимента ежедневно проводили наблюдение за общим состоянием и поведением самок. На 1, 7, 14 и 20-е сутки беременности животных взвешивали для выявления возможного токсического действия изучаемого препарата. В дни критических периодов беременности у 1/3 беременных крыс опытных групп после декапитации проводили лапаротомию, вырезали матку, переносили в чашку Петри с физиологическим раствором.



Вскрывали рога матки, подсчитывали число желтых тел беременности в яичниках, определяли число живых, мертвых и резорбированных плодов, обследовали слизистую оболочку матки, отмечая места имплантации.

На 20-е сутки беременности оставшихся самок декапитировали и вскрывали. Из матки извлекали плоды, освобождая их из оболочек, подсчитывали, тщательно осматривали, взвешивали, измеряли кранио-каудальный размер, определяли пол. Затем плоды делили на две равные группы: одну группу плодов фиксировали в жидкости Буэна для исследования на наличие аномалий внутренних органов по методу Вильсона в модификации отдела эмбриологии ИЭМ АМН СССР. Другую группу плодов фиксировали в 96%-ном спирте и после окраски ализарином по методу Даусона исследовали костную систему, измеряя длину участков окостенения длинных трубчатых костей (лопаточной, плечевой, локтевой, лучевой, бедренной, большой и малой берцовых). Осматривали, измеряли и взвешивали плаценту и с учётом массы эмбрионов определяли плодоплацентарный коэффициент по формуле:

$$K = \frac{M_{\text{плаценты}} \text{ мг}}{M_{\text{плода}} \text{ мг}} \times 100$$

Для суждения об эмбриотоксическом действии препарата учитывали предимплантационную гибель зигот (разность между числом желтых тел в яичниках и числом мест имплантации в матке от общего числа желтых тел в процентах), постимплантационную гибель эмбрионов (разность между числом мест имплантации и числом живых плодов в матке от числа мест имплантации в процентах) и общую эмбриональную смертность (разность между числом желтых тел беременности и живыми плодами от числа желтых тел в яичниках в процентах).

Показателями тератогенного действия являются нарушения органогенеза во внутриутробном периоде и изменения костной системы плода. Полученные данные обрабатывали статистически методом Стьюдента-Фишера с использованием коэффициента Ермолаева. Достоверность разности между контролем и опытом определяли с помощью критерия Стьюдента. За статистически значимые изменения был взят общепринятый уровень достоверности $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты оценки эмбриотропного действия триклабендазола суспензии 5 % при введении самкам крыс в различные сроки беременности приведены в таблицах 1–3.

Таблица 1

Результаты исследования эмбрионального материала после введения беременным крысам триклабендазола суспензии 5 % в дозе 36 мг/кг по ДВ (с 1 по 7-е сутки беременности, $P \geq 0,05$)

Показатель	Значение показателя для групп	
	опытной	контрольной
Число желтых тел беременности на 1 животное	11,88±0,72	12,75±0,81
Число желтых тел беременности в яичниках	190	102
Число мест имплантации на 1 животное	10,39±0,64	11,25±0,45
Число мест имплантации	166	90
Число резорбций	0,92±0,17	0,86±0,12
Число живых плодов на 1 животное	9,47±0,45	10,39±0,58
Число живых плодов	151	83
Общая эмбриональная смертность, %	20,53±2,94	18,63±3,87
Предимплантационная гибель, %	12,63±2,42	11,76±3,21
Постимплантационная гибель, %	9,04±2,23	7,78±2,84
Масса плода, г	2,26±0,02	2,28±0,01
Кранио-каудальный размер плодов, см	2,98±0,02	3,00±0,02
Масса плаценты, г	0,53±0,01	0,52±0,03
Размер плаценты, см	1,44±0,02	1,42±0,08
Плодоплацентарный коэффициент, %	23,45	22,81
Количество самок, %	41,04	43,47
Количество самцов, %	58,96	56,53

Таблица 2

Результаты исследования эмбрионального материала после введения беременным крысам триклабендазола суспензии 5 % в дозе 36 мг/кг по ДВ (с 8 по 14-е сутки беременности, $P \geq 0,05$)

Показатель	Значение показателя для групп	
	опытной	контрольной
Число желтых тел беременности на 1 животное	11,75±0,67	12,13±0,71
Число желтых тел беременности в яичниках	188	97
Число мест имплантации на 1 животное	10,31±0,64	10,75±0,45
Число мест имплантации	165	86
Число резорбций	0,81±0,21	0,62±0,15
Число живых плодов на 1 животное	9,50±0,34	10,13±0,85
Число живых плодов	152	81
Общая эмбриональная смертность, %	19,15±2,88	16,49±3,79
Предимплантационная гибель, %	12,23±2,40	11,34±3,24
Постимплантационная гибель, %	7,89±2,11	5,81±2,54



Масса плода, г	2,29±0,02	2,35±0,01
Кранио-каудальный размер плодов, см	3,07±0,03	3,01±0,02
Масса плаценты, г	0,55±0,01	0,56±0,03
Размер плаценты, см	1,44±0,04	1,42±0,08
Плодоплацентарный коэффициент, %	24,02	23,84
Количество самок, %	42,53	47,11
Количество самцов, %	57,47	52,89

Таблица 3

Результаты исследования эмбрионального материала после введения беременным крысам триклабендазола суспензии 5 % в дозе 36 мг/кг по ДВ (с 1 по 19-е сутки беременности, $P \geq 0,05$)

Показатель	Значение показателя для групп	
	опытной	контрольной
Число желтых тел беременности на 1 животное	12,00±0,85	12,88±0,93
Число желтых тел беременности в яичниках	192	103
Число мест имплантации на 1 животное	10,81±0,54	11,87±0,66
Число мест имплантации	173	95
Число резорбций	0,75±0,23	0,74±0,19
Число живых плодов на 1 животное	10,06±0,36	11,13±0,76
Число живых плодов	161	89
Общая эмбриональная смертность, %	16,15±2,66	13,59±3,39
Предимплантационная гибель, %	9,90±2,16	7,77±2,65
Постимплантационная гибель, %	6,94±1,94	6,32±2,49
Масса плода, г	2,35±0,02	2,31±0,01
Кранио-каудальный размер плодов, см	3,07±0,02	3,10±0,02
Масса плаценты, г	0,57±0,02	0,59±0,03
Размер плаценты, см	1,46±0,05	1,44±0,08
Плодоплацентарный коэффициент, %	24,26	25,54
Количество самок, %	42,38	46,88
Количество самцов, %	57,62	53,12

Общее состояние и поведение крыс, получавших триклабендазол суспензию 5 % во все сроки беременности, оставалось без изменений. Животные охотно потребляли корм и воду, адекватно реагировали на внешние раздражители. В период беременности крысы прибавляли в массе, выделений из влагалища отмечено не было.

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о том, что тестируемый лекарственный препарат не оказывает отрицательного влияния на эмбриональное развитие плода. При введении антигельминтика с 1 по 7-е сутки беременности предимплантационная, постимплантационная и общая эмбриональная смертность плодов составили соответственно 12,63 %, 9,04 и 20,53 % против 11,76 %, 7,78 и 18,63 % в контроле (табл. 1, $P \geq 0,05$). Введение препарата крысам с 8 по 14-е сутки беременности не оказало достоверного отрицательного воздействия на показатели гибели плодов. Предимплантационная, постимплантационная и общая эмбриональная смертность составила соответственно 12,23 %, 7,89 и 19,15 % и достоверно не отличалась от контрольных значений – 11,34 %, 5,81 и 16,49 % (табл. 2, $P \geq 0,05$). При введении препарата в течение всей беременности предимплантационная смертность составила 9,90 % (в контроле 7,77 %), постимплантационная смертность – 6,94 % (в контроле 6,32 %), общая эмбриональная смертность – 16,15 % (в контроле 13,59 %) (табл. 3, $P \geq 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что триклабендазол суспензия 5 % не индуцировал гибели эмбрионов в различные периоды эмбриогенеза, а исследованные показатели соответствовали не только контрольным, но и физиологическим значениям для данного вида животных.

Об отсутствии эмбриотоксического эффекта препарата также можно судить и по значениям массы и размера плодов. Так, при введении триклабендазола суспензии 5 % с 1 по 7-е и с 8 по 14-е сутки беременности масса плодов соответственно составила 2,26±0,02 и 2,29±0,02 г против контрольных значений 2,28±0,01 и 2,35±0,01 г (табл. 1, 2, $P \geq 0,05$). При ежедневном введении препарата с 1 по 19-е сутки беременности масса эмбрионов составила 2,35±0,02 г (в контроле 2,31±0,01 г) (табл. 3, $P \geq 0,05$).

При исследовании эмбрионального материала от крыс, получавших триклабендазол суспензию 5 %, каких-либо внешних аномалий развития (лицевого и мозгового черепа, глаз, ушных раковин, передней брюшной стенки, конечностей, хвоста) не выявлено.

После проведения последовательных сагиттальных срезов не установлено нарушений топографии крупных сосудов (артерий и вен), сердца, легких, органов брюшной полости. На уровне лицевого и мозгового черепа отмечали симметричность расположения анатомических структур нижней челюсти, переднего отдела твердого неба, носовой полости, глазных яблок и обонятельных лукович, больших полушарий головного мозга, мозжечка и продолговатого мозга.

Размеры зачатков лопаточной, плечевой, локтевой, лучевой, а также бедренной, большой и малой берцовых костей у опытных и контрольных плодов находились в пределах нормы (табл. 4–6, $P \geq 0,05$).

Соотношение самцов и самок в потомстве от крыс в опытных и контрольных группах было примерно одинаковым.



Таблица 4

Средние размеры зачатков костной системы у плодов после введения беременным крысам триклабендазол суспензии 5 % в дозе 36 мг/кг по ДВ (с 1 по 7-е сутки беременности, $P \geq 0,05$)

Название кости	Размер костей эмбрионов (мм) от крыс групп	
	опытной	контрольной
Лопаточная правая	4,24±0,06	4,27±0,09
левая	4,26±0,04	4,22±0,07
Плечевая правая	4,51±0,04	4,50±0,01
левая	4,50±0,07	4,47±0,03
Локтевая правая	4,58±0,06	4,56±0,07
левая	4,59±0,05	4,57±0,09
Лучевая правая	3,61±0,06	3,62±0,07
левая	3,60±0,07	3,57±0,05
Бедренная правая	3,08±0,06	3,14±0,05
левая	3,09±0,03	3,16±0,04
Б. берцовая правая	3,58±0,02	3,58±0,03
левая	3,57±0,03	3,56±0,04
М. берцовая правая	3,33±0,05	3,36±0,03
левая	3,35±0,03	3,34±0,02

Таблица 5

Средние размеры зачатков костной системы у плодов после введения беременным крысам триклабендазол суспензии 5 % в дозе 36 мг/кг по ДВ (с 8 по 14-е сутки беременности, $P \geq 0,05$)

Название кости	Размер костей эмбрионов (мм) от крыс групп	
	опытной	контрольной
Лопаточная правая	4,21±0,05	4,23±0,02
левая	4,20±0,02	4,22±0,04
Плечевая правая	4,50±0,03	4,49±0,02
левая	4,48±0,05	4,47±0,04
Локтевая правая	4,55±0,06	4,56±0,04
левая	4,56±0,05	4,57±0,03
Лучевая правая	3,57±0,03	3,58±0,08
левая	3,56±0,09	3,53±0,07
Бедренная правая	3,04±0,06	3,10±0,05
левая	3,05±0,07	3,13±0,07
Б. берцовая правая	3,53±0,08	3,53±0,03
левая	3,52±0,09	3,51±0,04
М. берцовая правая	3,30±0,05	3,33±0,01
левая	3,32±0,03	3,31±0,03

Таблица 6

Средние размеры зачатков костной системы у плодов после введения беременным крысам Триклабендазола суспензии 5% в дозе 36 мг/кг по ДВ (с 1 по 19-е сутки беременности, $P \geq 0,05$)

Название кости	Размер костей эмбрионов (мм) от крыс групп	
	опытной	контрольной
Лопаточная правая	4,20±0,06	4,21±0,03
левая	4,22±0,09	4,21±0,05
Плечевая правая	4,49±0,03	4,48±0,05
левая	4,51±0,08	4,49±0,07
Локтевая правая	4,54±0,06	4,53±0,06
левая	4,56±0,05	4,55±0,04
Лучевая правая	3,57±0,09	3,56±0,02
левая	3,58±0,05	3,58±0,05
Бедренная правая	3,09±0,02	3,11±0,05
левая	3,10±0,05	3,14±0,04
Б. берцовая правая	3,55±0,09	3,56±0,02
левая	3,53±0,07	3,58±0,05
М. берцовая правая	3,31±0,09	3,35±0,03
левая	3,30±0,07	3,32±0,02

Таким образом, при внутрижелудочном введении триклабендазола суспензии 5 % в дозе 36 мг/кг по ДВ самкам белых крыс в различные периоды эмбриогенеза, а также на всем протяжении беременности эмбриотоксических и тератогенных свойств препарата не выявлено.

Литература

- Дыбан А. П., Баранов В. С., Акимова И. М. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1970. – № 10. – С. 89–100.
- Дыбан А. П., Пучков В. Ф., Чеботарь Н. А. и др. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияние их на репродуктивную функцию. – М.: МЗ СССР, 1986. – 21 с.
- Жуленко В. Н., Рабинович М. И., Таланов Г. А. Ветеринарная токсикология. – М.: Колос, 2002. – 378 с.
- Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – 832 с.
- Boray J. C., Strong M. B., Schellenbaum M. von Orelli M. Chemoprophylaxis of fascioliasis in sheep and cattle. Abstr. 9-th Int. WAAVP Conf., Budapest, 1981, pp. 13–17.
- Eckert J., Schneider G., Wolff K. Fasinex (triclabendazole) – a new fasciolicide. Berl. und Munch.

Tierärztliche Wschr.-Schr., 1984, Vol. 97, No 10, pp. 349–356.

References

- Dyban A. P., Baranov V. S., Akimova I. M. Main methodical approaches to testing the teratogenic activity of chemical substances. *Arhiv anatomii, gistologii i embriologii*. [Archive of anatomy, histology and embryology], 1970, no. 10, pp. 89–100. (In Russian).
- Dyban A. P., Puchkov V. F., Chebotar' N. A. *Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu embriotoksicheskogo deystviya farmakologicheskikh veshchestv i vliyaniye ih na reproduktivnuyu funktsiyu*. [Methodical guidelines on research of embryotoxic effects of pharmacological substances and their impact on reproductive function]. M., Ministry of Health of the USSR, 1986. 21 p. (In Russian).
- Zhulenko V. N., Rabinovich M. I., Talanov G. A. *Veterinarnaya toksikologiya* [Veterinary toxicology]. M., Kolos, 2002. 378 p. (In Russian).
- Khabyrev R. U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. M., 2005. 832 p. (In Russian).
- Boray J. C., Strong M. B., Schellenbaum M. von Orelli M. Chemoprophylaxis of fascioliasis in sheep and cattle. Abstr. 9-th Int. WAAVP Conf., Budapest, 1981, pp. 13–17.
- Eckert J., Schneider G., Wolff K. Fasinex (triclabendazole) – a new fasciolicide. Berl. und Munch. Tierärztliche Wschr.-Schr., 1984, vol. 97, no 10, pp. 349–356.



Russian Journal of Parasitology, 2017, V.41, Iss.3

DOI:

Received 07.03.2017

Accepted 19.8.2017

EVALUATION OF EMBRYOTOXIC AND TERATOGENIC PROPERTIES OF TRICLABENDAZOLE SUSPENSION

Napalkova, V.V., Biryukov, N.P.

All-Federal state budgetary institution «The Russian state Center of quality and standardization medicines for animals and feed» (FGBI «VGNI»), 123022, Moscow, Zvenigorodskoe shosse 5, e-mail: kanc@vgni.ru

Abstract

Objective of research: To investigate embryotoxic and teratogenic properties of anthelmintic «Triclabendazole suspension of 5%» on white outbred rats.

Materials and methods: Experiments were conducted on 72 pregnant albino rats weighing 235-260 g that were divided into six groups: three experimental (by 16 pregnant females each) and three control groups (8 pregnant females each).

The rats from experimental groups were injected by suspension into the stomach at a dose of 36 mg/kg (3-fold therapeutic dose for cattle) in critical periods of embryogenesis as follows: 1 to 7 days of pregnancy (I group); 8 to 14 (II group) and from 1 to 19 days of pregnancy (III group). Control animals were injected with a physiological solution in an appropriate volume.

Embryotoxic effect of the drug was evaluated by pre-implantation death of zygotes, and post-implantation death of embryos and total embryonic mortality. Teratogenic effect was estimated on organogenesis disorders in utero and changes in bone system of the fetus.

Results and discussion: It was found that the general status and behavior of rats receiving the anthelmintic drug «Triclabendazole suspension 5%» at the dose of 36 mg a.i./kg remained without changes in all periods of pregnancy. The animals consumed food and water with pleasure, responded adequately to external stimuli.

«Triclabendazole suspension 5%» at the dose of 36 mg a.i./kg as an intragastric injection applied during critical periods of pregnancy does not induce pre-implantation, post-implantation and total embryonic mortality, and does not cause organogenesis disorders in utero and changes in bone system of the fetus.

Keywords: fascioliasis, suspension, rats, teratogenic and embryotoxic effects.

© 2017 The Authors. Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)