рарный университет». 2016. – С. 121-124.

10. Semenenko M.P. Pharmacodynamic activity of hepavitol: mechanisms of hepatopathy correction in animal's research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences / M.P. Semenenko, E.V. Kuzminova, S.I. Kononenko, V.A. Grin // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. № 9(4). С. 165.

DOI: 10.48612/3rzb-ubg5-k8x6
УДК 619:615.065:615.275.4:616-007

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИХ И ТЕРАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «СУБМАСТИН-КРС»

Грицюк Василина Александровна, канд. с.-х. наук
Хохлова Нина Алексеевна
Чаплыгина Юлия Алексеевна
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

В рамках доклинических исследований препарата «Субмастин-КРС», разработанного для терапии маститов у коров, изучены его эмбриотоксические и тератогенные свойства. В опыте были использованы 24 самки белых крыс (m=200-220 г), разделенных на группы (опытную и контрольную), к которым в фазу эструса подсаживали 8 самцов (m=250-270 г). Исследуемый препарат вводили самкам опытной группы внутримышечно один раз в сутки в десятикратной терапевтической дозе (1,0 мл/кг) на протяжении 19 дней эксперимента. Контрольная группа получала физраствор. Для выявления эмбриотоксического действия препарата на 20-е сутки гестации половину самок из каждой группы подвергали эвтаназии, проводили оценку эмбрионов и плацент; вторую половину крыс оставляли в опыте до момента естественных родов для оценки тератогенного действия. Установлено, что препарат «Субмастин-КРС» в изученной дозе не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием.

Ключевые слова: «Субмастин-КРС»; белые крысы; эмбриотоксическое действие; тератогенное действие; постнатальное развитие

EXPERIMENTAL STUDY OF EMBRYOTOXIC AND TERATOGENIC PROPERTIES OF "SUBMASTIN-KRS"

Gritsyuk Vasilina Aleksandrovna, PhD Agr. Sci.
Khokhlova Nina Alekseevna
Chaplygina Yuliya Alekseevna
FSBSI All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russian Federation

Within the framework of preclinical studies of the drug "Submastin-KRS", designed for the treatment of mastitis in cows, its embryotoxic and teratogenic properties have been studied. In the experiment, 24 female white rats (m=200-220 g) were used, divided into groups (experimental and control), to which 8 males (m=230-250 g) were placed during the estrus phase. The studied drug was intramuscularly administered to the females of the experimental group once a day at a tenfold therapeutic dose (1.0 ml/kg) for 19 days of the experiment. The control group received saline. To detect the embryotoxic effect of the drug on day 20 of gestation, half of the females from each group were euthanized, embryos and placentae were assessed; the second half of the rats were left in the experiment until the moment of natural birth to assess the teratogenic effect. It has been found that the drug "Submastin-KRS" at the studied dose does not have embryotoxic and teratogenic effects.

Keywords: "Submastin-KRS"; white rats; embryotoxic effect; teratogenic effect; postnatal development

Важнейшим и неотъемлемым этапом токсикологических исследований новых ветеринарных препаратов является проведение доклинических испытаний, в частности выявление возможных тератогенных и эмбриотоксических свойств. Так как применение различных лекарственных средств на животноводческих комплексах и предприятиях неизбежно, необходимо иметь представление о вероятности развития отдаленных последствий для потомства животных после их использования [2].

Применение лекарственных средств в период беременности потенциально может оказывать эмбриотоксическое, тератогенное, гонадотоксическое действие и приводить с стойким морфологическим изменениям всего организма или отдельных органов формирующегося плода. При этом от момента оплодотворения до начала формирования органов могут возникать эмбриопатии, в более позние сроки беременности – фетопатии [5]. Помимо воздействия извне, зародыш подвергается воздействию иммунной системы матери, так как характер иммунологических взаимоотношений между материнским организмом и организмом зародыша и плода до конца не изучен. Поэтому различные изменения в иммунной системе материнского организма как в период до, так и после имплантации зародыша, могут способствовать формированию различных патологий развития у эмбриона и плода [4].

Так как основным объектом воздействия вводимых при беременности лекарственных препаратов является материнский организм, нарушение его физиологических функций под влиянием различных факторов может активировать тератогенные или эмбриотоксические действия, а также приводить к самопроизвольным выкидышам и преждевременным родам. Плод же выступает в качестве реципиента и в период органогенеза становится наиболее уязвим для лекарственных препаратов, которые, проникая через плаценту, могут вызывать врожденные дефекты развития, степень воздействия которых зависит от химической структуры, дозы, скорости выделения из организма матери [1, 7].

Препараты, используемые для лечения мастита, необходимо еще более тщательно проверять, потому как стремление к постоянному увеличению продуктивности как молочного, так и мясного поголовья крупного рогатого скота на животноводческих комплексах обуславливает также и увеличение частоты проявления патологий различного генеза, среди которых преобладают заболевания молочной железы, связанные с дисбалансом биоэлементов, нарушением обмена веществ и, как следствие, повышенной чувствительностью к патогенным микроорганизмам, приводящей к снижению количества и качества получаемой продукции [3].

В настоящее время актуальной остается проблема изыскания вариантов противомаститной терапии без применения антимикробных средств. Одним из них является применение препаратов на основе видоспецифических рекомбинантных интерферонов, обладающих эффективностью за счет активации иммунной системы [8-10].

Так как изучаемый нами препарат «Субмастин-КРС», в 1 мл которого содержится смесь видоспецифических для КРС рекомбинантных цитокинов суммарной активностью не менее 10^4МЕ/мл и 75000 МЕ/мл витамина А, предназначен для терапии маститов у коров, то в соответствии с правилами доклинических исследований лекарственных средств перед нами стояла цель определить его потенциальное тератогенное и эмбриотоксическое действие.

Методика исследований. Экспериментальная работа по выявлению эмбриотоксического и тератогенного действия препарата «Субмастин-КРС» была проведена на белых беспородных крысах на базе вивария и отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ ВНИВИПФиТ. Все исследования на лабораторных животных были одобрены комиссией по биоэтике и проведены в соответствии с нормативной документацией [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986 и Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях; ГОСТ 33216-2014, ГОСТ 33215-2014].

В экспериментальной работе были задействованы 24 половозрелые самки белых крыс с исходной массой тела 200-220 г и 8 самцов того же возраста с исходной массой 230-250 г из расчета по одному самцу на три самки.

Всего было сформировано две группы животных – контрольная и опытная, каждая из которых состояла из 6 самок, рассаженных в четырех клетках. В день случки самок подсаживали к самцам по три особи на одного самца в течение двух эстральных циклов. Первым днем беременности считали день обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках. «Субмастин-КРС» внутримышечно вводили самкам опытной группы один раз в сутки на протяжении 19 дней в дозе 1,0 мл/кг (десятикратная терапевтическая доза). Группа животных, служившая контролем, содержалась в идентичных условиях и получала физиологический раствор тем же способом в эквивалентной дозе. На двадцатые сутки гестации пятьдесят процентов самок из каждой группы подвергали эвтаназии передозировкой углекислого газа в специальной камере и проводили патологоанатомическое исследование. В ходе аутопсии рога матки вместе с плодами извлекали, размещали в чашки Петри, промывали теплым раствором Рингера. С целью выявления возможного эмбриотоксического действия препарата проводили осмотр и подсчет мест имплантаций, резорбций, число живых и мертвых плодов, состояние и содержание амниона, околоплодных вод, целостность плацент, их кровоснабжение. В расчете на одну самку оценивали число желтых тел беременности, мест имплантации, количество плодов на самку, предимплантационную смертность (разность между числом жёлтых тел в яичниках и числом мест имплантации в матке от общего числа жёлтых тел в процентах) и постимплантационную смертность (разность между числом мест имплантации и числом живых плодов в матке от числа мест имплантации в процентах), общую эмбриональную смертность (разность между числом жёлтых тел беременности и живыми плодами от числа жёлтых тел в яичниках в процентах) [6]. После извлечения плодов под бинокулярной лупой (МБС-10) проводили их внешний осмотр с целью выявления врожденных пороков развития и признаков нарушения кровообращения в виде кровоизлияний, оценивали подвижность плодов, наружное развитие кожного покрова, мышечного слоя. Так же осматривали, измеряли и взвешивали плаценту и с учётом массы эмбрионов определяли плодоплацентарный коэффициент, который определяется как отношение массы плаценты к массе плода в мг и умноженный на 100 %.

Другую часть самок белых крыс оставляли в опыте до момента естественных родов. Оценку проводили по следующим критериям: продолжительность беременности в сутках, число крысят в помете, краниокаудальный размер, массу тела сразу после рождения и в динамике в течение 28 суток, сроки отлипания ушной раковины, опушения, прорезывания резцов, открывания глаз и постнатальную смертность [6].

Показателями тератогенного действия являются нарушения органогенеза во внутриутробном периоде и изменения костной системы плода. За новорожденными крысятами вели наблюдение, отмечая прирост массы тела и врожденные пороки развития.

Все полученные данные были обработаны посредством программы Statistica 6.0, достоверными считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p<0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. В течение экспериментального 19-ти суточного введения препарата «Субмастина-КРС» на фоне беременности у белых крыс не было отмечено каких-либо патологических состояний, снижения массы тела животных, изменений в поведении, потреблении корма и воды. На двадцатые сутки беременности крысы были выведены из эксперимента, все самки, как в контрольной, так и в опытной группе были с живыми плодами, крыс с мертвыми плодами было не более одного. У извлеченных плодов визуально не выявлено врожденных пороков развития и признаков нарушения кровообращения в виде кровоизлияний. На одну самку количество живых плодов в среднем составило в контрольной группе 10,6±0,42, в опытной – 10,5±0,34, что статистически не различимо. В отношении предимплантационной гибели потомства наблюдается незначительное увеличение в группе с «Субмастином-КРС», но данный показатель статистически недостоверен, так же, как и показатель общей эмбриональной смертности. Показатели постимплантационной гибели крысят опытной группы были чуть ниже по сравнению с контрольной группой (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты оценки эмбриотоксического действия «Субмастина-КРС» (M±m; n=6)

Показатели	Опытная группа «Субмастин-КРС»	Контрольная группа Физиологический раствор
Число желтых тел беременности на 1 животное	12,4±0,63	12,4±0,48
Число мест имплантации на 1 животное	11,5±0,52	11,6±0,35
Число резорбций	0,91±0,16	0,87±0,13
Число живых плодов на 1 животное	10,5±0,34	10,6±0,42
Число погибших плодов на 1 животное	1,15±0,122	1,16±0,123
Общая эмбриональная смертность, %	14,8±1,94	14,7±1,87
Предимплантационная гибель, %	7,04±1,17	6,68±1,15
Постимплантационная гибель, %	8,36±2,23	8,54±2,84
Масса плода, г	2,33±0,02	2,36±0,01
Кранио-каудальный размер плодов, см	3,35±0,023	3,54±0,028
Масса плаценты, г	0,53±0,01	0,52±0,02
Размер плаценты, см	1,44±0,02	1,42±0,08
Плодоплацентарный коэффициент, %	22,8	22,0

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что препарат «Субмастин-КРС» в различные периоды эмбриогенеза не индуцировал гибели эмбрионов, а исследованные показатели соответствовали не только контрольным, но и физиологическим значениям для данного вида животных.

Статистически достоверных различий с контрольными животными по изучаемым показателям не наблюдалось. Об отсутствии эмбриотоксического эффекта препарата также можно судить и по значениям массы и размера плодов. Масса тела плодов у подопытных животных, как опытной, так и контрольной групп, была практически одинакова; масса и размер плацент у плодов опытных животных была несколько выше, чем у контрольных, но различия были незначительны. По диаметру плацент между группами различия не выявлены.

Для изучения постнатального развития потомства белых крыс, учитывали открытие глазных щелей (12-14 дней), ушных раковин, прорезывание зубов (6-8 дней), развитие мышечной системы, наружных половых органов. Отмечено, что беременность у самок обеих групп проходила без видимых отклонений, за двое-трое суток до окота самки формировали гнездо из подстилки. Роды в опытной и контрольной группах животных прошли без осложнений. Каннибализма не наблюдалось. Количество приплода на одну самку в опытной группе составило в среднем 8,43, а в контрольной – 8,69. Продолжительность беременности в контроле составила 22,7±0,24 и в опыте 22,5±0,23 суток, не имея достоверных различий по срокам вынашивания крысят. Количество новорожденных животных в помете у самок обеих групп оказалось также не отличалась ($p<0,05$). Длина туловища и масса тела крысят, как в контроле, так и в опыте оказались идентичными, которые по нашим наблюдениям соответствовали норме, со стороны костно-скелетной системы аномальных явлений не обнаружено. В ходе исследований установлено, что признаки постнатальной патологии отсутствовали: отлипание ушной раковины у крысят опытной и контрольной группы происходило на вторые сутки жизни, на 5-е сутки у них появлялся первичный волосяной покров, крысята начинали обрастать шерстью. Прорезывание резцов отмечали также в одинаковые после рождения сроки, что в среднем длилось около 8 суток. Приблизительно на 16 сутки наблюдали открывание глаз в обеих группах. По росто-весовым показателям разница между группами не установлена. Молодняк обеих групп имел одинаковые параметры развития (таблица 2), что свидетельствует об отсутствии тератогенного эффекта у исследуемого препарата.

Таблица 2 – Оценка влияния препарата «Субмастин-КРС» на потомство крыс в постнатальный период (M±m; n=6)

Показатели	Опытная группа «Субмастин-КРС2	Контрольная группа. Изотонический раствор натрия хлорида
Число родивших самок	6	6
Число рожденных крысят на самку, голов	8,43±0,56	8,69±0,75
Рожденных живыми, %	100	100
Мертворожденных всего	0	0
Средняя масса крысят при рождении, г	4,35±0,26	4,40±0,32
Средняя длина туловища, мм	38,6±2,35	41,3±2,54
Отлипание ушной раковины, сутки	1,98±0,12	2,02±0,201
Появление первичного волосяного покрова, сутки	4,91±0,25	4,95±0,26
Прорезывание резцов, сутки	7,98±0,31	8,15±0,26
Открытие глаз, сутки	16,0±0,48	16,0±0,51

Выводы. В ходе проведенного эксперимента по изучению эмбриотоксических и тератогенных свойств «Субмастина-КРС» установлено, что в исследуемой дозе 1,0 мл/кг, десятикратно превышающей терапевтическую, не отмечено негативного воздействия препарата на самок белых крыс в период беременности, не установлено влияния на имплантацию и эмбриогенез, возникновения видимых аномалий плодов. В постнатальном периоде применение препарата не отразилось на развитии потомства. Рост новорожденных крысят соответствовал срокам их развития, динамика массы тела соответствовала физиологическим нормам для данного вида лабораторных животных. Следовательно, препарат «Субмастин-КРС» в изученной дозировке не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием.

Список литературы

1. Востроилова Г.А. Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия комплексного антибактериального препарата для лечения мастита у лактирующих коров / Г.А. Востроилова, А.А. Корчагина, Ю.А. Чаплыгина, Н.А. Хохлова // Ветеринария Кубани. 2020. – № 4. – С. 10-13.

2. Киреев И.В. Изучение эмбриотоксического эффекта антиоксидантного противовоспалительного препарата для животных / И.В. Киреев, В.А. Оробец, Т.С. Денисенко, Д.А. Зинченко // Вестник АГАУ. 2019. – № 6 (176). – С. 93-98.

3. Кучинский М.П. Изучение эмбриотоксичности, тератогенности и кожно-резорбтивного действия нового ветеринарного препарата «Кальцемагфосвит» / М.П. Кучинский, А.А. Сонов, Т.М. Савчук // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. 2020. – № 1. – С. 60-63.

4. Лис Р.Е. Влияние модификации Т-клеточного иммунитета белых крыс в первую половину беременности на развитие плодов / Р.Е. Лис, Т.Л. Молько // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2019. –№2. – С. 20-24.

5. Муравьева К.В. Оценка репродуктивной безопасности средства из растительного сырья / К.В. Муравьева // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. 2019. – №3. – С. 177-180.

6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: Гриф и К. 2012. – 944 с.

7. Саноев З.И. Исследование эмбриотоксичности и тератогенности главного алкалоида Arundo donax донаксина / З.И. Саноев, Л.К. Якубова // Наука, техника и образование. 2018. – №1 (42). – С. 51-55

8. Boxx G.M. The Roles of Type I Interferon in Bacterial Infection / G.M. Boxx, G. Cheng // Cell Host Microbe. 2016 № 19(6). – p. 760-769. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.016.

9. Gomes F. Control of Bovine Mastitis: Old and Recent Therapeutic Approaches / F. Gomes, M. Henriques // Curr Microbiol. 2016. – № 72(4). – P. 377-382.

10. Shabunin S.V. Using biferon-b for the prevention of mastitis in cow / S.V. Shabunin, A. Pashentsev, N.T. Klimov, V.I. Morgunova, V.A. Gritsyuk // BIO Web of Conferences. International Scientific-Practical Conference "Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources" (FIES 2019). 2020. – P. 00099.

DOI: 10.48612/v7kz-2men-rtkk
УДК 619:615.33

РАЗРАБОТКА И ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Кастарнова Елена Сергеевна[1], канд. биол. наук
Оробец Владимир Александрович[2], д-р. вет. наук
[1]ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Российская Федерация
[2]ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», г. Ставрополь, Российская Федерация

Разработаны антибактериальные препараты ветеринарного назначения и изучена их фармакокинетическая характеристика. Было установлено, что разработанные препараты на основе экзосомальных и хитозановых наночастиц обладают рядом преимуществ перед существующими аналогами, а именно пролонгированностью и выраженной селективностью к легочной ткани, что предопределяет однократное применение антибактериальных препаратов при терапии легочной патологии животных.

Ключевые слова: антибиотики; азитромицин; селективность; экзосомы; хитозан; фармакокинетика

DEVELOPMENT AND PHARMACOKINETIC CHARACTERISTICS OF VETERINARY ANTIBACTERIAL DRUGS

Kastarnova Elena Sergeevna[1], PhD Biol. Sci.
Orobets Vladimir Aleksandrovich[2], Dr. Vet. Sci.
[1]Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Stavropol, Russian Federation
[2]The Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russian Federation

Antibacterial drugs for veterinary use were developed and the pharmacokinetic characteristics were studied. It was found that the developed drugs based on exosomal and chitosan nanoparticles have a number of advantages over existing analogues, such as, prolongation and pronounced selectivity to lung tissue, which determines the single use of antibacterial drugs in the treatment of pulmonary pathology in animals.

Keywords: antibiotics; azithromycin; selectivity; exosomes; chitosan; pharmacokinetics

Разработка антибактериальных препаратов ветеринарного назначения с повышенной селективностью является актуальным направлением фармакологии [1-5].

Методика исследований. В период с 2015 по 2020 годы на базе кафедры терапии и фармакологии Ставропольского ГАУ и лаборатории биохимии Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора проводилась работа по разработке селективных антибактериальных препаратов на основе экзосомальных и хитозановых наночастиц.

Азитромицин инкорпорировали в экзосомальные частицы (препарат «Экзазит») посредством электропорационного инкубирования. Методом динамического светорассеяния на лазерном корреляционном спектрометре (анализатор NANO-flex, Microtrac, США) определяли размерные характеристики экзосомальных частиц. Методом УФ-спектрофотометрии определяли концентрацию азитромицина, рассчитывали степень