

## ИЗУЧЕНИЕ ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА «ДОКСИЦИКЛИН-КОМПЛЕКС»

Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Ларионов С.В., Козлов С.В.

*Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова*

В данной работе приведены материалы по изучению эмбриотоксического действия антибактериального препарата «Доксициклин-комплекс», в состав которого входят: доксициклина гиклат – 100 мг/мл и бромгексина гидрохлорид – 5 мг/мл, а в качестве вспомогательных веществ лактулоза – 100 мг/мл и солюфор – до 1 мл. Исследования проводили на 2 группах нелинейных виргинных крыс (n=15 в каждой группе) с исходной массой 230–250 г. Первая группа животных (контроль) получала растворитель, содержащий солюфор и вспомогательные вещества бромгексин и лактулозу из расчёта 100 мг/кг массы тела, вторая группа (опыт) получала препарат «Доксициклин-комплекс» в дозировке 100 мг/кг массы тела животного (10 мг/кг по действующему веществу – доксициклина гиклат). Расчёт показателей эмбриотоксического эффекта проводили согласно методическим рекомендациям Фармакологического Государственного комитета («Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», Москва, 2005). На основании результатов вскрытия животных были определены следующие показатели: количество желтых тел, количество мест имплантации, количество живых и мертвых плодов, регистрировали данные о предимплантационной и постимплантационной гибели плодов, измеряли краниокаудальный размер плодов, проводили внешний осмотр плодов и определяли количество плодов с аномалиями развития, изучали состояние костной системы и состояние внутренних органов плодов, в частности, регистрировали количество обследованных плодов с аномалиями развития. На основании полученных данных установлено, что исследуемый препарат «Доксициклин-комплекс» обладает эмбриотоксическими свойствами и оказывает отрицательный эффект на потомство во время начального периода беременности.

Ключевые слова: доксициклина гиклат, антибиотические средства, эмбриотоксичность, солюфор, бромгексин.

## THE STUDY OF EMBRYOTOXIC EFFECT OF THE ANTIBIOTIC MEDICATION "DOXYCYCLINE-COMPLEX"

Sazykina K.I., Volkov A.A., Staroverov S.A., Larionov S.V., Kozlov S.V.

*Saratov State Agrarian University Named After N. I. Vavilov*

This paper examines the embryotoxic effect of the antibiotic medication "doxycycline-complex" which consists of doxycycline hyclate – 100 mg/ml and bromhexine hydrochloride – 5 mg/ml, and as adjuvants: lactulose – 100 mg/ml and soluphor – up to 1 ml. The study has been conducted upon two groups of nonlinear virgin rats (n=15 in each group) of the original weight of 230–250 g. The first group of animals (control group) was given a solvent containing soluphor and adjuvants (bromhexine and lactulose) on the basis of 100 mg/kg of body weight; the second group (the experimental group) was given the medication "doxycycline-complex" in dosage 100mg/kg of animal's body weight (10 mg/kg of the active ingredient – doxycycline hyclate). Calculation of indices of embryotoxic effect has been conducted according to the recommendations of the State Pharmacological Committee ("Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmokologicheskikh veschestv", Moscow, 2005). Relying on the results of animals' autopsy, the following indices have been defined: the quantity of corpus luteum, "yellow body", the quantity of places of implantation, the quantity of alive and dead fetuses; the data of preimplantational and postimplantational fetal death have been registered, the craniocaudal fetal size have been measured, the examination of fetuses have been conducted and the quantity of fetuses with maldevelopment has been defined, the conditions of skeletal system and conditions of fetal internal have been studied, in particular the quantity of fetuses with maldevelopment has been registered. Relying on the research results, we have defined that the medication "Doxycycline-complex" has embryotoxic qualities and has a negative effect on progeny during early pregnancy.

Keywords: doxycycline hyclate, antibiotics, embryotoxicity, soluphor, bromhexine.

### Введение

Первостепенное внимание научного сообщества уделяется поиску новых противомикробных средств или их комбинаций, обладающих комплексным

профилактическим и терапевтическим потенциалом, позволяющим снизить риск возникновения побочных эффектов и осуществить полноценную терапию [1,7]. Особое значение при этом придается снижению токсичности препаратов и повышению их биодоступности [8,10, 6].

Известно, что практически все антибактериальные препараты обладают эмбриотоксическим действием, соответственно, экспериментальное изучение отдаленных последствий воздействия на организм химических веществ является существенным разделом токсиколого-гигиенической оценки лекарственных препаратов [5]. В комплексе биологических эффектов, относящихся к отдаленным последствиям воздействия химических факторов, важное значение имеет изучение влияния химических соединений в пренатальный период развития организма. В настоящее время накоплены многочисленные данные о возможном влиянии химических веществ на процессы эмбриогенеза [4].

Выявление реальной и потенциальной опасности вредного действия химических веществ на плод в условиях эксперимента на лабораторных животных требует унифицированных методических подходов для выбора тест-объектов, испытываемых доз, продолжительности опыта и количественной оценки результатов. Общепринятое понятие – эмбриотоксичность подразумевает потенциальную возможность какого-либо вещества оказывать отрицательный эффект на потомство во время начального периода беременности, т.е. в период между зачатием и образованием эмбриона [9].

Учитывая широкое, а не редко и бесконтрольное применение антибактериальных препаратов широкого спектра действия в животноводстве и птицеводстве [2], необходимо особое внимание уделять изучению фармако-токсикологических свойств разрабатываемых химиотерапевтических препаратов, в том числе определению эмбриотоксических свойств [3].

**Цель исследования.** Провести экспериментальное изучение эмбриотоксического действия новой лекарственной формы разработанного препарата «Доксициклин-комплекс» на лабораторных животных.

#### **Материалы и методы исследований**

Исследуемый объект – комбинированный антибактериальный препарат, представляющий собой сочетание следующих компонентов: доксициклина гиклат – 100 мг/мл, бромгексина гидрохлорид – 5 мг/мл, а в качестве вспомогательных веществ лактулоза – 100 мг/мл и солюфор (поливинилпирролидон).

Исследования проводились в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), «Методическими указаниями по гигиенической оценке новых пестицидов» (Киев, 1988),

методическими рекомендациями Фармакологического Государственного комитета («Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», Москва, 2005) и приказа МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Эксперименты проводили на беспородных белых половозрелых виргинных (неоплодотворенных) самках крыс массой 230–260 г.

Животных содержали в виварии согласно санитарным правилам и на стандартном рационе в соответствии с приказом МЗ СССР № 1045-73 от 06.04.73 г.; правилами лабораторной практики и приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.83 г. Животные находились в виварии при стандартном освещении (12 ч свет/12 ч темнота) при температуре воздуха 20 °С и относительной влажности 70 %. Работу с животными проводили в соответствии с приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. и правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Эмбриотоксические свойства доксициклина изучали в дозе 10 мг/кг (терапевтическая доза).

Интактные половозрелые самцы массой 280–350 г., случённые с самками для индукции беременности, после подтверждения наступления беременности из эксперимента были исключены. Перед постановкой эксперимента у каждой самки брались вагинальные смывы. Животное считалось беременным, если в смывах при микроскопических исследованиях обнаруживались сперматозоиды (этот день считают первым днём беременности). Изучение безопасности «Доксициклин-комплекс» в антенатальном периоде проводили на нелинейных виргинных крысах 2-х групп (n=15 в каждой группе) с исходной массой 230–260 г. Животным вводили следующие исследуемые вещества: I группа (контроль) – солюфор (растворитель), содержащий вспомогательные вещества бромгексин и лактулозу – в адекватных объемах (исходя из объемов препарата, вводимого опытной группе животных или 100 мг/кг массы тела);

II группа (опыт) – препарат «Доксициклин-комплекс» в дозировке 10 мг/кг массы тела животного по действующему веществу (Доксициклина гиклат).

Препараты вводили животным при помощи желудочного зонда один раз в сутки в одно и то же время с 1 по 19 дни беременности. На 20 день беременности под эфирным наркозом производили эвтаназию крыс и их вскрытие. На основании результатов вскрытия животных были определены следующие показатели: количество желтых тел, количество мест имплантации, количество живых и мертвых плодов, регистрировали данные о предимплантационной и постимплантационной гибели плодов, измеряли краниокаудальный размер плодов, проводили внешний осмотр плодов и определяли количество плодов с аномалиями развития, изучали состояние костной системы и

состояние внутренних органов плодов, в частности, регистрировали количество обследованных плодов с аномалиями развития.

После наружного осмотра и морфометрии плоды каждого помета фиксировали в 96° этаноле и использовали для изучения состояния скелета по методике Доусона. Окрашивание скелета ализарином (методика Доусона, модифицированная в отделе эмбриологии НИИЭМ АМН СССР). Окрашивание окостеневших участков скелета плодов производили погружением плодов в слабый раствор ализарина красного. Затем плоды изучали, учитывали аномалии скелета, количество точек окостенения в различных костных образованиях. Данные, полученные при вскрытии каждого животного, протоколировали.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Оценка состояния генеративной функции крыс под воздействием препарата «Доксициклин-комплекс» не выявила достоверных изменений предимплантационной гибели эмбрионов, которая составила 6 % в опытной и 5 % в контрольной группе, что указывает на однородность групп животных. Вместе с этим отмечаются достоверные изменения при исследовании постимплантационной гибели плодов, которая в опытной группе составила 15,7 %, что значительно выше по сравнению с 7,14 % в контрольной группе животных (табл. 1). Данные изменения свидетельствуют о высокой эмбриотоксичности препарата.

**Таблица 1.** Оценка состояния генеративной функции крыс под воздействием препарата «Доксициклин-комплекс»

№	Опытная группа			Контрольная группа		
	Число живых плодов	Число мёртвых плодов	Число имплантов	Число живых плодов	Число мёртвых плодов	Число имплантов
1	11	2	13	10	0	10
2	10	2	12	11	2	13
3	11	2	13	11	0	11
4	11	1	12	10	2	12
5	9	2	11	11	2	13
6	11	2	13	12	1	13
7	10	2	12	13	2	15
8	9	2	11	13	0	13
9	12	1	13	14	2	16
10	11	2	13	14	0	14
11	11	1	13	12	1	13
12	9	2	11	13	1	14
13	10	2	13	12	0	12
14	9	2	11	14	0	14
15	12	2	14	12	1	13
<b>Среднее на одно животное</b>	10,4	1,8	12,3	12,13	0,93	13,07
<b>Всего</b>	156	27	185	182	14	196

Внешний осмотр плодов во время вскрытия самок опытной группы, получавшей «Доксициклин-комплекс» в терапевтической дозе, выявил патологии плодов. Наблюдали возникновение разнообразных уродств у 47,4 % плодов. Среди аномалий развития чаще всего наблюдались расщепление верхнего неба, гипоплазия нижней челюсти, гипоплазия и синдактилия конечностей. В контрольной группе данных патологии плодов не обнаружено. Кроме того, у 47,4 % плодов, которым орально вводили «Доксициклин-комплекс», были обнаружены подкожные кровоизлияния, гемorragии в оболочке мозга, скопление крови в серозных полостях (табл. 2).

**Таблица 2.** Исследование эмбриотоксического действия препарата «Доксициклин-комплекс» на белых крысах при оральном введении

Показатели	Группа	
	контроль	опыт
Количество беременных самок	15	15
Количество желтых тел	207 / 13,8	197/13,13
Количество мест имплантации	196 / 13,07	185/12,3
Количество живых плодов	182 / 12,13	156/10,4
Количество мертвых плодов	14/0,9	27/1,8
Предимплантационная гибель, %	5,31	6,09
Постимплантационная гибель, %	7,14	15,7
Масса плода, г	3,8±0,5	2,7±0,2
Краниокаудальный размер, мм	3,9±0,23	2,6±0,15
Внешний осмотр плодов: количество обследованных плодов из них с аномалиями развития:	всего осмотрено 182 плод с внешними аномалиями плодов не обнаружено	156
абс		74
%		47,4
Состояние костной системы: количество обследованных плодов из них с аномалиями развития:	182	156
абс	0	74
%	0	47,4
Состояние внутренних органов: количество обследованных плодов из них с аномалиями развития:	182	156
абс	6	74
%	3,3	47,4

### Заключение

Комбинированный антибактериальный препарат на основе доксициклина, лактулозы и бромгексина обладает эмбриотоксическими свойствами, что подтверждает постимплантационная гибель плодов (15,7 %) и возникновение уродств у 47,4 % плодов

опытной группы. По результатам исследований следует исключить «Доксициклин-комплекс» из числа антибиотиков, назначаемых животным во время беременности и вязки.

### Список литературы

1. Григорьев П. Я., Яковенко Э. П. Лактулоза в терапии заболеваний органов пищеварения // Российский гастроэнтерологический журнал. – 2000. – № 2.
2. Домницкий И.Ю. Случай аспергиллеза у голубя // Ветеринарная практика. – 2007. – № 2(37). – С. 71-72.
3. Енгашев С.В., Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В. Терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин комплекс» при болезнях органов пищеварения у молодняка свиней // Ветеринарная патология. – 2013. – № 4 (46). – С. 24-31.
4. Никулин И.А., Шумилин Ю.А. Применение пуриветина для лечения гепатоза новорожденных телят // Ветеринарный врач. – 2007. – № 1. – С. 37-39.
5. Ратных О.А., Никулин И.А., Беляев В.И. Эмбриотоксическое и тератогенное действие нового гуминового препарата энэрген-аква // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2012. – № 1. – С. 94-95.
6. Сазыкина К.И. Применение комплексного антибиотического препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении респираторных заболеваний смешанной бактериальной этиологии // Международный научно-исследовательский журнал. – 2014. – № 1-4 (20). – С. 78-80.
7. Сазыкина К.И., Енгашев С.В., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В. Конструирование комплексного антибактериального препарата на основе доксициклина, лактулозы и бромгексина // Ветеринарная патология. – 2013. – № 4 (46). – С. 83-88.
8. Houtmeyers E., Gosselink R., Gayan-Ramirez G., Decramer M. Effects of drugs on mucus clearance // Eur Respir J. – 1999. – V. 14. – P. 452-467.
9. Matsuda Y., Hobo S., Naito H. Transferability of Cephalothin to the Alveolar Cavity in Thoroughbreds // J. Vet. Med. Sci. – 1999. – 61 (3). – P. 209-212.
10. Tenover F.C. Глобальная проблема антимикробной резистентности // Русский медицинский журнал. – 1996. – Т.3, № 4. – С. 217-219.

### Рецензенты:

Калюжный И.И., д.вет.н., профессор кафедры «Терапия, акушерство и фармакология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова», г. Саратов.

Домницкий И.Ю., д.вет.н., профессор кафедры "Морфология, патология животных и биология" ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова», г. Саратов.