

Я.Г. Разуваева^{1, 2}, В.В. Аюшеева¹, И.Г. Николаева^{1, 2}**ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО СРЕДСТВА
«ПАНКРЕОФИТ»**¹ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, Улан-Удэ, Россия² ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», Улан-Удэ, Россия

В рамках исследования возможного негативного влияния растительного средства «Панкреофит» на репродуктивную функцию лабораторных животных были проведены исследования на наличие возможной эмбриотоксичности, тератогенности, фетотоксичности и влияния на постнатальное развитие потомства белых крыс. Установлено, что «Панкреофит» в дозах 300 и 600 мг/кг не оказывает эмбриотоксического, тератогенного и фетотоксического действия. Введение животным «Панкреофита» в дозе 300 мг/кг с 6-го по 19-й день беременности не влияет на постнатальное развитие потомства белых крыс.

Ключевые слова: растительное средство «Панкреофит», эмбриотоксичность, тератогенность, фетотоксичность, постнатальное развитие

ASSESSMENT OF SPECIFIC TOXICITY OF THE COMPLEX REMEDY “PANCREOPHYT”Ya.G. Razuvaeva^{1, 2}, V.V. Ayusheeva¹, I.G. Nikolaeva^{1, 2}¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia² Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

The experiments were carried out on white Wistar rats. The probable embryotoxic, teratogenic and fetotoxic influences of the plant remedy “Pancreophyt” at the doses of 300 (1/10 DL₅₀) and 600 mg/kg (1/5 DL₅₀) were studied. The findings have shown that all indices of embryo lethality (the number of implantation sites, the number of alive fetus and the number of resorptions) in female white rats treated with the “Pancreophyt” do not differ significantly from the indices of the control group. The mass and craniocaudal dimensions of the fetus in the experimental group corresponded to the indices in the control group. In the second set of experiments the influence of the “Pancreophyt” (300 mg/kg) on the postnatal development of white rat offspring was studied. It was revealed that the death of infant rats was noted only on the 1st day of observation and was 4,7 %; the liveweight gain and linear size of infant rats do not differ from the indices of those in the control group.

Key words: plant remedy “Pancreophyt”, embryotoxicity, teratogenicity, foetotoxicity, the postnatal development

ВВЕДЕНИЕ

«Панкреофит» – условное название комплексного растительного средства, представляющего собой сумму экстрактивных веществ из 7 видов растительного сырья: *Bidens tripartita* L. (трава), *Gnaphalium uliginosum* L. (трава), *Hypericum perforatum* L. (трава), *Calendula officinalis* L. (соцветия), *Inula helenium* L. (корни), *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz (побеги) и *Vaccinium myrtillus* L. (побеги). Ранее в экспериментах установлено, что «Панкреофит» обладает выраженной противовоспалительной, стресспротективной, мембраностабилизирующей, антиоксидантной активностью и оказывает панкреопротекторное влияние при острых панкреатитах [1, 4, 5, 8]. Способ получения данного средства защищен патентом [3].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка репродуктивной токсичности комплексного средства «Панкреофит».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа выполнена на белых крысах линии Wistar. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Перед началом экспериментов животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, распределялись на группы с учетом пола, возраста, массы и принципа рандомизации. Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986).

В первой серии экспериментов, согласно методическим указаниям по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ [6], на 20-дневных плодах, полученных от половозрелых самок белых крыс массой 180–200 г и самцов массой 200–250 г, исследовали возможное эмбриотоксическое, тератогенное и фетотоксическое влияние «Панкреофита». «Панкреофит» в дозе 600 мг/кг (1/5 DL₅₀) вводили животным по следующему схеме: с 1-го по 6-й (доимплантационный период), с 6-го по 16-й (органогенез) и с 16-го по 19-й (фетогенез) дни беременности; в дозе 300 мг/кг (1/10 DL₅₀) – с 1-х по 19-е сутки беременности. Животные контрольной группы получали очищенную воду с 1-х по 19-е сутки. Первым днем беременности считали наличие сперматозоидов во влагалищном мазке животных. На 20-й день беременности подсчитывали количе-

ство желтых тел в яичниках, число мест имплантаций, количество живых и мертвых плодов, а также резорбций [6]. По данным параметрам вычисляли предимплантационную, постимплантационную и общую эмбриональную смертность. 20-дневные плоды каждого помета взвешивали, измеряли их кранио-каудальные размеры и обследовали под бинокулярным микроскопом для обнаружения внешних видимых аномалий развития. После наружного осмотра плоды каждого помета делили на две группы. Одну группу плодов фиксировали в жидкости Буэна и использовали для изучения внутренних органов. Исследование внутренних органов плодов проводили по методике Вильсона [6]. Для изучения состояния скелета остальные плоды фиксировали в 96° этаноле. Состояние костной системы исследовали по методу Доусона [2].

Во второй серии экспериментов исследовали влияние «Панкреофита» на постнатальное развитие потомства белых крыс согласно методическим указаниям [6]. Испытуемое средство в дозе 300 мг/кг вводили самкам 1 раз в сутки с 6-го дня беременности и до родов (период органо- и фетогенеза), животным контрольной группы – очищенную воду в эквивалентном объеме по аналогичной схеме. Наблюдение за потомством крыс вели по 28-й день жизни крысят. При наблюдении учитывали количество живых и погибших крысят в эти сроки, прирост массы тела и кранио-каудальные размеры крысят по методу А.П. Дыбана [2] и следили за ходом постнатального развития крысят.

Результаты исследований статистически обработаны общепринятыми методами для малой выборки с определением средней величины (*M*) и средней ошибки (*m*). Достоверность результатов исследований оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований (табл. 1) свидетельствуют о том, что у самок белых крыс, получавших экстракт «Панкреофит» в дозах 300 и 600 мг/кг, все показатели эмбриолетальности (количество мест имплантаций, количество живых плодов и число резорбций) не имели значимых различий с показателями самок контрольной группы. Показатель предимплантационной смертности в группах животных, получавших Панкреофит» в дозе 600 мг/кг, значимо не отличался от такового в контрольной группе; у крыс, получавших фитоэкстракт в дозе 300 мг/кг, указанный показатель был в 2,0 раза ниже контрольного. У животных всех опытных групп отсутствовала постимплантационная смерть. Масса и кранио-каудальные размеры плодов опытных групп соответствовали показателям плодов контрольной группы.

При внешнем осмотре плодов каждого помета видимые внешние аномалии развития обнаружены не были. При исследовании тератогенного действия «Панкреофита» на основании микроанатомического изучения внутренних органов и аномалий в костной системе эмбрионов существенных отклонений от контрольных показателей не было выявлено.

При исследовании влияния «Панкреофита» на постнатальное развитие потомства было установлено, что гибель крысят в опытной группе наблюдалась только на 1-е сутки наблюдения и составила 4,7 %, что значимо не отличалось от показателя в контрольной группе (5,2 %). В последующие сроки наблюдения гибели крысят в опытной группе выявлено не было. Прирост массы тела и линейные размеры крысят у самок, получавших испытуемый фитоэкстракт, не отличались от показателей крысят контрольной группы (табл. 2).

Таблица 1
Исследование эмбриотоксического и тератогенного действия «Панкреофита» на белых крысах

Показатели	Группы животных				
	Контроль	«Панкреофит»			
Доза	–	300 мг/кг	600 мг/кг		
Дни ведения	1–19	1–19	1–6	6–16	16–19
Число беременных самок	12	12	10	11	10
Количество желтых тел	101 / 8,5	95 / 7,9	80 / 8,0	104 / 9,5	86 / 8,6
Число мест имплантаций	96 / 8,0	93 / 7,8	76 / 7,6	99 / 9	82 / 8,2
Число живых плодов	94 / 7,8	93 / 7,8	76 / 7,6	99 / 9	82 / 8,2
Число резорбций	6	2	4	5	4
Предимплантационная смертность, %	5,0	2,1	5	4,8	4,7
Постимплантационная смертность, %	2,1	0	0	0	0
Общая эмбриональная смертность, %	6,9	2,1	6,2	4,8	4,7
Масса плодов, г	2,1 ± 0,06	2,2 ± 0,06	2,1 ± 0,05	2,1 ± 0,04	2,1 ± 0,04
Кранио-каудальный размер плодов, см	3,2 ± 0,05	3,2 ± 0,07	3,1 ± 0,09	3,1 ± 0,02	3,1 ± 0,04
Количество животных с аномалиями	2	1	–	–	–

Примечание. ... / ... – общее количество / количество на одну крысу.

Влияние «Панкреофита» на прирост массы тела и линейные размеры крысят

Сроки исследования, сутки	Группы животных			
	Контроль	«Панкреофит»	Контроль	«Панкреофит»
	Масса крысят, г		Кранио-каудальные размеры, см	
1-е	6,1 ± 0,09	6,3 ± 0,12	4,8 ± 0,20	4,9 ± 0,12
7-е	13,2 ± 0,73	13,7 ± 0,45	6,2 ± 0,09	6,3 ± 0,08
14-е	20,2 ± 0,88	21,1 ± 0,67	7,9 ± 0,10	8,0 ± 0,09
21-е	29,8 ± 0,98	30,9 ± 0,98	9,6 ± 0,12	9,8 ± 0,12
28-е	38,2 ± 2,12	39,2 ± 3,20	12,0 ± 0,19	12,2 ± 0,21

Таким образом, «Панкреофит» в дозах 300 и 600 мг/кг не оказывает эмбриотоксического, тератогенного и фетотоксического эффекта. Введение самкам белых крыс в период органогенеза и фетогенеза испытуемого экстракта в экспериментально-терапевтической дозе 300 мг/кг не оказывает влияния на постнатальное развитие потомства лабораторных животных.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Доржиев А.М., Разуваева Я.Г., Николаев С.М. и др. Фармакотерапевтическая эффективность комплексного растительного средства «Панкреофит» при остром панкреатите у белых крыс // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2007. – Т. 75, № 8. – С. 65–68.

Dorgiev AM, Razuvaeva YG, Nikolaev SM et al. (2007). Pharmacotherapeutic efficiency of complex phytotherapy «Pancreophyt» at acute pancreatitis in white rats [Farmakoterapevticheskaya ehffektivnost kompleksnogo rastitelnogo sredstva pankreofit pri ostrom pankreatite u belykh krysl]. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)*, 75 (8), 65-68.

2. Дыбан А.П. Техника тератологического эксперимента на млекопитающих // Методы биологии развития. – М., 1974. – С. 299–313

Dyban AP (1974). Appliance of teratological experiment in mammals [Tekhnika teratologicheskogo ehksperimenta na mlekopitayushhikh]. *Metody biologii razvitija*, 299-313.

3. Лекарственное средство, обладающее антиоксидантной и панкреозащитной активностью: Патент № 2410113 Российская Федерация, МПК⁵¹ А61К36/00 (2006.01) / Николаев С.М., Николаева И.Г., Разуваева Я.Г., Занданов А.О., Доржиев А.М. – № 2009112762/15; заявл. 06.04.2009; опубл. 20.10.2011, Бюл. № 3. – 4 с.

Nikolaev SM, Nikolaeva IG, Razuvaeva YG, Zandarov AO, Dorzhiev AM (2011). Medicinal agent with antioxidant and pancreoprotective activity [Lekarstvennoe sredstvo, obladajushhee antioksidantnoj i pankreozashhitnoj aktivnost'ju]: Patent N 2410113 of Russian Federation, IPC⁵¹ A61K36/00 (2006.01), N 2009112762/15; appl. 4/6/2009; publ. 10.20.2011 (3), 4.

4. Николаев С.М., Николаева И.Г., Разуваева Я.Г., Доржиев А.М. Антиоксидантная активность нового панкреозащитного средства «Панкреофит» и изучение его флавоноидного состава // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – Т. 45, № 5. – С. 22–24.

Nikolaev SM, Nikolaeva IG, Razuvaeva YG, Dorzhiev AM (2011). Antioxidant activity of a new pancreoprotective agent Pancreophyt and study of its flavonoid composition [Antioksidantnaja aktivnost' novogo pankreozashhitnogo sredstva «Pankreofit» i izuchenie ego flavonoidnogo sostava]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 45 (5), 279-281.

5. Разуваева Я.Г., Доржиев А.М., Николаев С.М., Николаева И.Г. Морфофункциональная оценка фармакотерапевтической эффективности растительного средства «Панкреофит» при экспериментальном тритоновом панкреатите // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 1 (77), Ч. 2. – С. 266–268.

Razuvaeva YG, Dorzhiev AM, Nikolaev SM, Nikolaeva IG (2011). Morphofunctional assessment of pharmacotherapeutic effectiveness of plant agent «Pancreophyt» at the experimental Triton pancreatitis [Morfofunkcional'naja ocenka farmakoterapevticheskoy jeffektivnosti rastitel'nogo sredstva «Pankreofit» pri jeksperimental'nom tritonovom pankreatite]. *Bjulleten' VSNC SO RAMN*, № 1 (77), 2, 266-268.

6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. – М., 2005. – 832 с.

Khabriev RU (ed.) (2005). Manual on the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances [Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv], 832.

7. Сергиенко В.И., Бондаренко И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2006. – 256 с.

Sergienko VI, Bondarenko IB (2006). Mathematical statistics in clinical trials [Matematicheskaja statistika v klinicheskikh issledovanijah], 256.

8. Dorzhiev AM, Toropova AA, Razuvaeva YG (2008). Membrano-stabilizing activity of «Pancreophyt». *Traditional medicine: A current situation and perspectives of development*, 104.

Сведения об авторах
Information about the authors

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, старший преподаватель медицинского института Бурятского государственного университета (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-37-13, факс: 8 (3012) 43-30-34; e-mail: tatur75@mail.ru)

Razuvaeva Yanina Gennadyevna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Biologically Active Substances Safety of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Senior Teacher of Medical Institute of Buryat State University (Sakhyanova str., 6, Ulan-Ude, Russia, 670047; tel. +7 (3012) 43-37-13, fax: +7 (3012) 43-30-34; e-mail: tatur75@mail.ru)

Аюшеева Виктория Валерьевна – ведущий инженер лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Ayusheeva Viktoriya Valerjevna – Principal Engineer of the Laboratory of Biologically Active Substances Safety of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Николаева Ирина Геннадьевна – доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, старший преподаватель медицинского института Бурятского государственного университета

Nikolaeva Irina Gennadyevna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Biomedical Researches of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS