



Поступила в редакцию 31.01.2017
Принята в печать 04.06.2017

УДК 619:616.995.428
DOI:

Для цитирования:

Миленина М.В., Мусаев М.Б. Доклиническое тестирование нового отечественного супрамолекулярного комплекса триклабендазола «триклафасцид» на эмбриотропную активность // Российский паразитологический журнал. – М. 2017. – Т.41. – Вып.3. – С. 266–270.

For citation:

Milenina M. V., Musaev M. B. Preclinical testing of new domestic supramolecular complex of triclabendazole "Triclafascid" embryotrophic activity. Russian Journal of Parasitology, 2017, V. 41, Iss.3, pp. 266–270.

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ТРИКЛАБЕНДАЗОЛА «ТРИКЛАФАСЦИД» НА ЭМБРИОТРОПНУЮ АКТИВНОСТЬ

Миленина М.В., Мусаев М.Б.

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И.Скрябина, 117218 Москва, Б. Черемушкинская, д. 28, e-mail: secretar@vniigis.ru

Реферат

Цель исследования: эмбриотоксическое и тератогенное действие нового отечественного супрамолекулярного комплекса триклабендазола «триклафасцид».

Материалы и методы. Эмбриотоксическое и тератогенное действие новой отечественной лекарственной формы триклафасцида изучали соотношения с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ».

Изучение эмбриотропного действия супрамолекулярного комплексного препарата на основе субстанции триклабендазола проводили на 40 белых беспородных крысах – самках массой 220-260г и 10 самцах, в соответствии с Методическими рекомендациями по оценке влияния препарата на генеративную функцию животных. К крысам-самкам подсаживали на ночь самцов из соотношения 1:4. Обнаружение спермиев во влагалищном мазке самки, на утро, после подсадки самца указывало на оплодотворение – первый день беременности.

Так как чувствительность эмбриона к химическому веществу различна и зависит от стадий развития плода, животных разделили на 4 группы, по 10 особей в каждой. Триклафасцид вводили беременным самкам перорально в трехкратно увеличенной терапевтической дозе 6,0 мг/кг (60 мг/кг по препарату), первой группе с 1 по 6 день беременности, второй с 7 - 14, третьей с 15 - 19, четвертая группа служила контролем и получала 1% крахмальный гель.

На 20-й день беременности крыс усыпляли углекислым газом. После убоя и вскрытия брюшной полости извлекали матку с плодами. Подсчитывали количество желтых тел беременности, мест имплантации, резорбции, живых и мертвых эмбрионов. Для оценки эмбриотоксического эффекта плоды просматривали под бинокулярной лупой для обнаружения внешних аномалий развития, взвешивали, измеряли кранио-каудальный размер, массу и диаметр плаценты. Определяли пред- и постимплантационную гибель и общую эмбриональную смертность эмбрионов. После осмотра эмбрионы от каждой крысы делили на две равные группы: первую фиксировали в растворе Буэна на 14 суток для изучения внутренних органов плодов и аномалий в развитии плодов, которые являются показателями тератогенного эффекта определяемые по методу J.G. Wilson (1965) в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР (схема разрезов, сделанных через плод); вторую фиксировали в 96° спирте для изучения костной системы после ее окрашивания по методу Даусона (A.V. Dawson, 1926).

Полученные параметры обрабатывали методом вариационной статистики с помощью простого сравнения средних по двустороннему t-критерию Стьюдента. Различия определяли при 0,05 уровне значимости. Расчет выполнен с помощью программы «Student-200».

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследований, триклафасцид не проявил эмбриотоксической активности при воздействии в 3-кратно увеличенной терапевтической дозе 6,0 мг/кг по ДВ. Так, уровень общей, пред- и постимплантационной смертности плодов в опытных и контрольной группах достоверно не отличались, как при введении препарата на 1-6 дни беременности, так и на 7 – 14 и 15 – 19 дни.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что препарат Триклафасцид не оказывает отрицательного влияния на эмбриональное развитие плода. По значениям пред- и постимплантационной и общей эмбриональной смертности опытных животных, в сравнении с контрольными значениями, можно сказать, что препарат не индуцировал гибель эмбрионов в различные периоды эмбриогенеза. Масса и размеры плодов также не отличались от контроля, что говорит об отсутствии эмбриотоксического эффекта.

При тщательном визуальном осмотре плодов во всех опытных группах не было обнаружено каких-либо внешних аномалий развития, в сравнении с контролем. По результатам выполнения девяти сагиттальных разрезов внутренних органов, аномалий развития внутренних органов, нарушения топографии не было обнаружено. Тератогенный эффект, характеризующийся различными аномалиями со стороны внутренних органов плодов (метод Вильсона) и внешними дефектами развития, также не был отмечен.

При изучении костной системы: размеры зачатков лопаточной; плечевой; локтевой; лучевой; бедренной; большой и малой берцовых костей у опытных и контрольных эмбрионов были близки по показателям (длина, мм). Состояние костной системы было без изменений ($P \geq 0,05$). Следовательно, триклафасцид не проявил тератогенной активности при воздействии в "критические" периоды эмбриогенеза крыс.

Ключевые слова: Триклафасцид (ТКБ/АГТ), крысы, эмбриотоксический эффект, тератогенный эффект, пред- и постимплантационная гибель, общая эмбриональная смертность, эмбрионы, резорбция плодов, плацента, желтые тела.

Введение

Триклабендазол, в химическом строении 5-хлоро-6 (2,3- дихлорофенокси)-2-(метилтио)1Н-бензимидазол. В СССР (1983) была зарегистрирована для ветеринарной практики 5%-я суспензия триклабендазола под названием Фазинекс



[1] Триклабендазол (triclabendazole) является средством, используемое для лечения людей и животных при фасциолезе. В России фасциолез у животных распространен повсеместно [3,9] и причиняет немалый ущерб животноводству [7]. ТКБ нашёл широкое применение за рубежом и при фасциолезе крупного рогатого скота. В России препарат практически не применяется из-за высокой стоимости. Бензимидазолы- препараты широкого антигельминтного, противоопухолевого и фунгицидного действия. Однако, наряду с положительными качествами, многие из них обладают мутагенной, тератогенной и эмбриотоксической активностью. Тератогенная активность проявляется в различных анамалиях развития (гидроцефалия, экзерцефалия, нарушение развития скелета плодов), эмбриотоксичность- в наличии резорбированных плодов, в уменьшении размеров и массы плодов /Рябова В.А., Лаптева Л.А., 1981/ [12]. Все бензимидазолы проявляют низкую токсичность их ЛД50 в несколько раз превышает терапевтическую.

Оксфендазол в дозе 15 мг/кг у крыс с 9 по 15 дни эмбриогенеза проявил тератогенный эффект, а дозе 10,5 мг/кг- эмбриотоксический (Delatour P. Et all, 1982) [6]. По данным Delatour P. et all. (1974) мебендазол в дозе 40 мг/кг проявил у крыс выраженное эмбриотропное действие, были отмечены скелетные аномалии. Тогда как у собак, свиней и лошадей в период органогенеза данный эффект отсутствовал [4]. При введении албендазола в дозах 11-15 мг/кг у овец нарушалась репродуктивность, у крыс установлены эмбриотропные действия албендазола при введении в дозе 6 мг/кг с 8-15 дни эмбриогенеза (Delatour P. Et all, 1981) [5]. По данным Гаджиева И.М. (1985) албендазол в дозе 7,5 мг/кг проявил эмбриотоксическое и тератогенное действие [2].

Наряду с многочисленными данными о эмбриотоксической и тератогенной активности производных бензимидазолов на лабораторных животных некоторые, у продуктивных животных данный эффект не проявляют.

Известен факт, что многие из них при воздействии каких-либо добавок, входящих в их состав лекарственных форм, становятся менее эмбриотоксичны или вовсе теряют своё побочное действие (Схира В.Н., Демидов Н.В., Новик Т.С., Михайлюк А.Н., 1984) [10].

Для обеспечения высокой антигельминтной и экономической эффективности и безопасности применения нами разработан с применением механохимической нанотехнологии в измельчителях ударно-истирающего типа с регулируемой энергонапряжённостью, отечественный инновационный супрамолекулярный комплексный антигельминтик Триклафасцид (ТКБ/АГГ) на основе субстанции триклабендазола с водорастворимым полисахаридом арабиногалактан, выделяемый из лиственницы сибирской, экологически чистым и безопасным продуктом, который широко применяется в медицине и ветеринарии. Триклафасцид разработан совместно с сотрудником Института элементоорганических соединений им. Н.А. Несмеева (ИНЭОС РАН, г. Москва) профессором Халиковым С.С. и любезно передан нам для доклинического и производственного испытания.

Цель работы: эмбриотоксическое и тератогенное действие нового отечественного супрамолекулярного комплекса триклабендазола «Триклафасцид».

Материалы и методы

Эмбриотоксическое и тератогенное действие новой отечественной лекарственной формы триклафасцида изучали соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» все новые фармакологические вещества должны подвергаться тестированию на репродуктивную токсичность [13]. Животных получали из питомника «Филиал Андреевка ГУ НЦ биомедицинских технологий РАМН», которые ранее не участвовали в опытах. Вновь прибывшие в виварий института животных находились в комнате карантинирования и адаптации в течение 14 суток. Крыс содержали в виварии согласно санитарным правилам в поликарбонатных клетках, в качестве подстила использовали древесные опилки. Кормление животных осуществляли полнорационным экструдированным комбикормом для лабораторных животных (крыс, мышей, хомяков) ГОСТ Р 51849-2011 Р.5 доставлял ООО «Лабораторкорм», г. Москва, поили из стандартных поилок водопроводной водой, соответствующей ГОСТу «Вода питьевая». Животных содержали в помещениях с естественно-искусственным освещением и контролируемым микроклиматом.

Изучение эмбриотропного действия супрамолекулярного комплекса триклабендазола на основе полимера арибиногалактан проводили на 40 белых беспородных крысах – самках массой 220-260г и 10 самцах, в соответствии с Методическими рекомендациями по оценке влияния препарата на генеративную функцию животных. К крысам-самкам подсаживали на ночь самцов из соотношения 1:4. Обнаружение спермиев во влагалищном мазке самки, на утро, после подсадки самца указывало на оплодотворение –первый день беременности. Так как чувствительность эмбриона к химическому веществу различна и зависит от стадий развития плода, животных разделили на 4 группы, по 10 особей в каждой. Триклафасцид вводили беременным самкам перорально в трехкратно увеличенной терапевтической дозе 6,0 мг/кг (60 мг/кг по препарату), первой группе с 1 по 6 день беременности; второй с 7 – 14; третьей с 15 – 19; четвертая группа служила контролем и получала 1% крахмальный гель.

На 20-й день беременности крыс убивали. После убоя и вскрытия брюшной полости извлекали матку с плодами. Подсчитывали количество желтых тел беременности, мест имплантации, резорбции, живых и мертвых эмбрионов. Для оценки эмбриотоксического эффекта плоды просматривали под бинокулярной лупой для обнаружения внешних аномалий развития, взвешивали, измеряли кранио-каудальный размер, массу и диаметр плаценты. Определяли пред- и постимплантационную гибель и общую эмбриональную смертность эмбрионов. После осмотра эмбрионы от каждой крысы делили на две равные группы, первую фиксировали в растворе Буэна на 14 суток для изучения внутренних органов плодов и аномалий в развитии плодов, которые являются показателями тератогенного эффекта, определяемые по методу J.G. Wilson (1965) в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР (схема разрезов, сделанных через плод) [15], вторую- фиксировали в 96° спирте для изучения костной системы после ее окрашивания по методу Даусона (A.V. Dawson, 1926) [14]. Полученные параметры обрабатывали методом вариационной статистики с помощью простого сравнения средних по двустороннему t-критерию Стьюдента. Различия определяли при 0,05 уровне значимости. Расчет выполнен с помощью программы «Student-200».

Результаты и обсуждения

Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия триклафасцида провели, воздействуя препаратом в основные периоды эмбриогенеза крыс: 1-7; 7-14 и с 14-20 дни беременности (образования зиготы, период нейруляции и органогенеза). Данные периоды были взяты в связи с тем, что производные бензимидазола повреждают развивающийся плод именно в данные сроки беременности.

На протяжении периода введения препарата у крыс-самок не наблюдали признаков токсикоза, видимых нарушений беременности, нарушения физиологических функций. Прирост массы у опытных животных не отличался от контроля. Как показали результаты исследований, триклафасцид не проявил эмбриотоксической активности при воздействии



в 3-кратно увеличенной терапевтической дозе 6,0 мг/кг по ДВ, так как уровень общей, пред- и постимплантационной смертности плодов в подопытных и контрольной группах достоверно не отличались, как при введении препарата на 1-6 дни беременности, так и на 7 – 14 и 15 – 19 дни (табл. 1).

Результаты исследования эмбрионального материала после введения препарата Триклафасцид в различные периоды эмбриогенеза сведены в табл. № 1. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что препарат Триклафасцид не оказывает отрицательного влияния на эмбриональное развитие плода. По значениям пред- и постимплантационной и общей эмбриональной смертности опытных животных, в сравнении с контрольными значениями, можно сказать, что препарат не индуцировал гибель эмбрионов в различные периоды эмбриогенеза. Масса и размеры плодов также не отличались от контроля, при воздействии триклафасцида на 1-6 дни наблюдалась тенденция к уменьшению общей и предимплантационной смертности, а показатели размера и массы плодов в подопытных и контрольной группах не значительно отличались ($P \geq 0,05$), то есть отсутствовал эмбриотоксический эффект.

При тщательном визуальном осмотре плодов во всех опытных группах не было обнаружено каких-либо внешних аномалий развития, в сравнении с контролем. По результатам выполнения девяти сагиттальных разрезов внутренних уродств, аномалий развития внутренних органов, нарушения топографии не было обнаружено.

Тератогенный эффект, характеризующийся различными аномалиями со стороны внутренних органов плодов (метод Вильсона) и внешними дефектами развития, также не был отмечен.

Таблица 1

Результаты исследования эмбрионального материала после введения беременным крысам препарата Триклафасцида в дозах 6,0 мг/кг в различные периоды эмбриогенеза

Показатели	Периоды введения препарата			Контроль 1 - 19
	1 - 6	7 - 14	15 - 19	
Число самок	10	10	10	10
Среднее число плодов на одну самку	9,14±0,91	10,45±0,78	9,80±0,58	9,84±1,11
Среднее число резорбций на одну самку	0,50±0,29	0,70±0,71	0,31±0,09	0,69±0,35
Предимплантационная гибель, %	10,41±2,57	9,12±1,49	7,69±2,45	8,33±2,21
Постимплантационная гибель, %	11,32±2,11	10,21±3,05	8,31±2,53	9,09±2,96
Общая эмбриональная смертность, %	11,11±2,83	18,18±3,01	15,38±2,78	16,67±3,25
Число случаев полной внутриутробной гибели	0	0	0	0
Масса плода, г	2,57±0,3	2,77±0,1	2,89±0,04	2,59±0,03
Краниокаудальный размер плода, см	2,93±0,07	2,95±0,06	2,86±0,06	2,98±0,08
Масса плаценты, г	0,73±0,04	0,74±0,05	0,62±0,04	0,71±0,03
Диаметр плаценты, см	1,41±0,09	1,54±0,02	1,42±0,03	1,45±0,01
Плодоплацентарный эффект %	28,4	26,71	21,45	27,00
Число эмбрионов с аномалиями развития: внешними внутренними	0 0	0 0	0 0	0 0

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$

Таблица 2

Средние размеры зачатков костной системы у плодов после введения препарата триклафасцида в дозе 6,0мг/кг в различные периоды эмбриогенеза

Название кости		Размер кости (длина,мм)			Контроль
		Периоды эмбриогенеза			
	1-6	7-14	15-19		
Плечевая	левая	2,4±0,02	2,39±0,02	2,45±0,02	2,35±0,02
	правая	2,28±0,6	2,36±0,02	2,44±0,01	2,31±0,03
Локтевая	левая	2,29±0,06	2,32±0,04	2,36±0,04	2,37±0,01
	правая	2,37±0,03	2,35±0,02	2,31±0,03	2,38±0,01
Лучевая	левая	1,95±0,04	1,94±0,01	1,89±0,03	1,91±0,02
	правая	1,97±0,04	1,92±0,03	1,93±0,03	1,87±0,01
Бедренная	левая	1,65±0,04	1,59±0,12	1,71±0,01	1,69±0,02
	правая	1,61±0,05	1,63±0,04	1,68±0,02	1,68±0,13
Большая берцовая	левая	2,05±0,02	2,12±0,01	1,98 ±0,02	1,96±0,03
	правая	2,08±0,02	2,03±0,14	1,99±0,03	2,11±0,02
Малая берцовая	левая	1,98±0,02	2,02±0,01	1,95±0,02	1,94±0,10
	правая	1,96±0,02	1,99±0,03	1,97±0,01	2,01±0,12
Лопатка	левая	2,48±0,02	2,55±0,01	2,57±0,02	2,51±0,03
	правая	2,49±0,01	2,54±0,11	2,61±0,01	2,56±0,02

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$



При изучении костной системы: размеры зачатков лопаточной; плечевой; локтевой; лучевой; бедренной; большой и малой берцовых костей у опытных и контрольных эмбрионов были близки по показателям (длина, мм) (таблица № 2). Состояние костной системы было без изменений ($P \geq 0,05$). Следовательно, триклафасид не проявил тератогенной активности при воздействии в "критические" периоды эмбриогенеза крыс.

Заключение

На основании проведенных исследований можем сделать вывод, что при внутрижелудочном введении в различные периоды эмбриогенеза, препарата триклафасида в трёхкратно увеличенной терапевтической дозе 6,0 мг/кг не оказал эмбриотропной активности при воздействии в "критические" периоды эмбриогенеза крыс, когда идёт стадия бластоцисты (1-2 дни), начало имплантации с одновременным началом плацентации (7-8 дни) и период активного органогенеза (13-14 дни), развития мозгового придатка, закрытия заднего невропора, формирование скелета из мезенхимы, в основном черепа, позвонков и дуг, формирование небного гребня и т.д., в то время как лекарственные формы производных бензимидазола показывают различную активность в отношении развивающихся плодов.

Литература

1. Boray J.C., Crowfoot P.D., Strong M.B. et al. // *Vet. Rec.* – 1983. – Vol. 113. – P. 315-317.
2. Гаджиев И.М. Влияние антигельминтиков ивермектина, албендазола и фенотиазина на эмбриогенез и генетические структуры животных // *Дисс. ... канд. вет. наук.* – М., 1985. – С. 56-123.
3. Демидов Н.В. Фасциолез животных // *М.*, – Колос. – 1965.
4. Delatour P., Lorgue G., Lapras M., Deschanel J.P. Propriétés embryotoxiques (rat) et résidus (ovins, bovins) de trois anthelmintiques dérivés du benzimidazole // *Bull. Soc. Sci., Vet. Med. Comp. Lion.* – 1974. – v. 74. – n 2. – P. 174-144-154.
5. Delatour P., Parish R., Cyurik R. Aibendazole^a a comparision of relay emdryotoxicity of individual metabolites. // *Ann. Rech. Vet.* – 1981. – V. 12. – № 2. – P. 159-167.
6. Delatour P., Yoshimura Y.H., Carmer F., Benoit E. Embryotoxicity compare des metabolites de l'oxfenbazole. // *Rec. Med. Vet.* – 1982. – v. 158. – № 2. – P. 369-373.
7. Мальцев К.Л. Экстенсивность и интенсивность фасциолёзной инвазии крупного рогатого скота в Центрально-черноземной зоне России / К.Л. Мальцев, А.Н. Аксенов. – М., 2001. – 6 с.
8. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств.
9. Сазанов А.М., Сафуллин Р.Г. Лечебная и экономическая эффективность политрема и гексихола при фасциолезе коров // *Тез. докл. научн. конф. «Меры профилактики и борьбы с трематодозами человека и животных».* – Сумы. – 1991. – С. 104.
10. Скира В.Н., Демидов Н.В., Новик Т.С., Михайлюк А.Н. Предотвращение эмбриотоксического и тератогенного действия антигельминтиков-производных бензимидазолкарбаматов (на примере БМК) // *Бюл. Всес. ин-та гельминтол.* – 1984. – Вып. 39. – С. 77-78.
11. Сорокина, Н.П. Эпизоотология фасциолеза крупного рогатого скота в Московской области // Н.П. Сорокина, И.А. Молчанов // *Основные достижения и перспективы развития паразитологии: Материалы международной конференции.* – М., 2004. – С. 295-296.
12. Рябова В.А., Лаптева Л.А. Эмбриотоксическое и тератогенное действие БМК на зародыши крыс // *Бюл. Всес. ин-та гельминтол.* – 1981. – вып. 28. – С. 56-60.
13. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000.
14. Dawson A.B. // A not the staining of the Sceletion of cleared Specimens with alizarin red s.-Staintech. – 1926. – 1. – P. 123-124.
14. Dawson A.B., // A not the staining of the Sceletion of cleared Specimens with alizarin red s. – Stain techn. – 1926/ – 1. – P. 123-124/
15. Wilson J.G. // Methods for administering and detecting malformations in experimental animals. In *Teratology; Principles and Tichiques:* J.G. Wilson and J. Warkani. Tds. University of Chicago Press, Chicago. – 1965. – P. 262-277.

References

1. Gadzhiev I. M. *Vliyaniye antigel'mintikov ivermektina, albendazola i fenotiazina na embriogenez i geneticheskie struktury zhivotnyh: dis. ... kand. vet. nauk.* [Effect of anthelmintics ivermectin, albendazole and fenothiazine on embryogenesis and genetic structures of animals. PhD diss. vet. sci.]. M., 1985, pp. 56–123. (In Russian)
2. Demidov N. V. *Fasciolez zhivotnyh* [Fascioliasis in animals]. M., Kolos, 1965. 207 p. (In Russian)
3. Mal'tsev K. L., Akse'nov A. N. *Ekstensivnost' i intensivnost' fascioloznoy invazii krupnogo rogatogo skota v Tsentral'no-chernozemy'noy zone Rossii* [Extensivity and intensity of invasion of cattle from Central Black Earth Region of Russia]. M., 2001. 6 p. (In Russian)
4. Mironov A. N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* [Guidelines on preclinical studies of pharmaceuticals. Part One]. M., Grif and K., 2012. 244 p. Publ. (In Russian)
5. Ryabova V. A., Lapteva L. A. Embryotoxic and teratogenic effects of anthelmintic BMC on rat embryos. *Byul. Vses. in-ta gel'mintol* [Bulletin of All-Union Inst. of Helminthol. named after K.I. Skryabin], 1981, i. 28, pp. 56–60. (In Russian)
6. Sazanov A. M., Safullin R. G. Medical and economic efficiency of Politremum and Hexycholem for treatment of fascioliasis in cows. *Tezisy dokladov nauchnoy konferentsii «Mery profilaktiki i bor'by s trematodozami cheloveka i zhivotnyh»*. [Proc. of sci. conf. «Measures for prevention and struggle against trematodoses in human and animals)]. Sumy, 1991, pp.104. (In Russian)
7. Skira V. N., Demidov N. V., Novik T. S., Mihaylyuk A. N. Prevention of embryotoxic and teratogenic effects of anthelmintics – benzimidazole carbamate derivatives (on the example of BMC). *Byul. Vses. in-ta gel'mintol* [Bulletin of All-Union Inst. of Helminthol. named after K.I. Skryabin], 1984, i. 39, pp.77–78. (In Russian)
8. Sorokina N. P., Molchanov I. A. Epizitology of fascioliasis in cattle from Moscow region. *Mater. mezhdunar. konf. «Osnovnye dostizheniya i perspektivy razvitiya parazitologii»*. [Proc. of int. conf. «Main achievements and perspectives of parasitology development»]. M., 2004, pp. 295–296. (In Russian)
9. Habriev 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)
10. Boray J. C., Crowfoot P. D., Strong M. B. et al. Treatment of immature and mature Fasciola hepatica infections in sheep with triclabendazole. *Vet. Res.*, 1983, vol. 113, pp. 315–317.
11. Dawson A. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin Red S. *Biotech & Histochem.*, 1926, vol. 1, pp. 123–124.
12. Delatour P., Lorgue G., Lapras M., Deschanel J. P. Propriétés embryotoxiques (rat) et résidus (ovins, bovins) de trois anthelmintiques dérivés du benzimidazole. *Bull. Soc. Sci., Vet. Med. Comp. Lion*, 1974, vol. 74, no. 2, pp. 174–144–154.
13. Delatour P., Parish R., Cyurik R. Albendazole a comparison of relay embryotoxicity of individual metabolites. *Ann. Rech. Vet.*, 1981, vol. 12, no. 2, pp. 159–167.
14. Delatour P., Yoshimura Y. H., Carmer F., Benoit E. Embryotoxicity compare des metabolites de l'oxfenbazole. *Rec. Med. Vet.*, 1982, vol. 158, no. 2, pp. 369–373.



15. Wilson J. G. Methods for administering and detecting malformations in experimental animals. In Teratology; Principles and Tichigues: J. G. Wilson and J. Warkani. Tds. University of Chicago Press, Chicago, 1965, pp. 262–277.

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

DOI:

Received 31.01.2017

Accepted 04.06.2017

PRECLINICAL TESTING OF NEW DOMESTIC SUPRAMOLECULAR COMPLEX OF TRICLABENDAZOLE "TRICLAFASCID" ON EMBRYOTROPIC ACTIVITY

Milenina M. V., Musaev M. B.

All-Russian scientific research Institute of fundamental and applied Parasitology of animals and plants to them. K. I. Skryabin, Moscow 117218, B. Cheremushkinskaya, d. 28, e-mail: secretar@vniigis.ru

Abstract

The purpose of the study: embryotoxic and teratogenic effects of a new domestic supramolecular complex of triclabendazole "Triclafascid".

Materials and methods. Embryotoxic and teratogenic effects of new domestic formulations studied Triclafascid accordance with the "Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances".

The study embryotropic actions supramolecular complex preparation on the basis of the substance of triclabendazole was performed on 40 white mongrel female rats weighing 220-260g and 10 males, in accordance with the guidelines on the assessment of the impact of drugs on generative function of animals. To rats-females were placed overnight male ratio of 1:4. Detection of sperm in the vaginal smear, the females, on the morning after the infusion of the male is pointed at fertilization –the first day of pregnancy. Since the sensitivity of the embryo to chemical and depends on the various stages of fetal development, the animals were divided into 4 groups of 10 animals each. Triclafascid was administered orally to pregnant females three times increased therapeutic dose of 6.0 mg/kg (60 mg/kg of the drug), the first group 1 on day 6 of pregnancy, the second from 7 - 14, third 15 and 19, the fourth group served as control and received 1% starch gel. On the 20th pregnancy day, the rats were euthanized with carbon dioxide. After slaughter and opening of the abdominal cavity have been removed the uterus with the fruit. Counted the number of yellow bodies of pregnancy, places of implantation, resorption, live and dead embryos. To assess the embryotoxic effect of the fruits were viewed under binocular magnifying glass to detect external anomalies, weighed, measured the cranio-caudal size, weight and diameter of placenta. Was determined pre - and postimplantation loss and total embryonic mortality of embryos. After inspection, the embryos from each rat was divided into two equal groups: the first were fixed in solution of Bouin for 14 days to study the internal organs of fetuses, and anomalies in developing fetuses, which are indications of teratogenic effect is determined by the method of J. G. Wilson (1965) in modification of the Department of embryology held the Academy of medical Sciences of the USSR (the scheme of transects made through the fetus); the second was fixed in 96 alcohol for study of the bone system after its dyeing by the method of Dawson (A. B. Dawson, 1926). The parameters obtained were processed by variation statistics with the help of simple comparisons of average according to the bilateral student's t-test. The difference was determined at 0.05 level of significance. The calculations were performed using the "Student-200".

The results and discussion. As shown by the results of studies Triclafascid showed no embryotoxic activity when exposed to 3-fold increased therapeutic dose of 6.0 mg/kg po DV. So, overall, pre-and postimplantation mortality of fetuses in the experimental and control groups did not differ significantly, as with the introduction of the drug for 1-6 days of pregnancy and 7 – 14 and 15 – 19 days. Based on these data it can be concluded that the drug Triclafascid has no negative influence on embryonic development. Values pre - and postimplantation and total embryonic mortality of experimental animals in comparison with control values, we can say that the drug did not induce the death of embryos in different periods of embryogenesis. The mass and size of the fruit also did not differ from the control, which indicates the absence of embryotoxic effect. A careful visual inspection of fruits in all experimental groups was not detected for any external malformations compared with controls. By the execution of nine sagittal sections of internal abnormalities, malformations of the internal organs, disorders of the topography was found. A teratogenic effect characterized by different anomalies of the internal organs of fetuses (Wilson's method) and external defects were also not observed. When studying the skeletal system: the sizes of the rudiments of the shoulder; brachial; ulnar; radial; femoral; large and small tibial bones from experimental and control embryos were similar in metrics (length, mm). The condition of the bone system was unchanged ($P \geq 0.05$). Therefore, Triclafascid showed no teratogenic activity when exposed at critical periods of embryogenesis of rats.

Keywords: Triclafascid, rats, fetotoxic effects, teratogenic effects, pre - and postimplantation death, total embryo mortality, embryos, resorption of fetuses, placenta, yellow body.

© 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>)