УДК 615.32

Я.Г. Разуваева [1, 3], С.М. Николаев [1, 2, 3], Н.В. Верлан [2], И.П. Убеева [2, 3], В.В. Аюшеева [1]

ОЦЕНКА РЕПРОДУКТИВНОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА

[1] ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, Улан-Удэ, Россия
[2] ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, Иркутск, Россия
[3] ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», Улан-Удэ, Россия

В рамках исследования возможного негативного влияния комплексного средства «Тиретон» на репродуктивную функцию лабораторных животных были проведены исследования на наличие возможной эмбриотоксичности, тератогенности, фетотоксичности и влияния на постнатальное развитие потомства лабораторных животных. Установлено, что «Тиреотон» в дозах 75 и 750 мг/кг не оказывает эмбриотоксического, тератогенного и фетотоксического действия, а также не влияет на постнатальное развитие потомства белых крыс.

Ключевые слова: *комплексное растительное средство, Potentilla alba* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Rhodiola rosea* L., *эмбриотоксичность, тератогенность, фетотоксичность, постнатальное развитие*

ESTIMATION OF REPRODUCTIVE TOXICITY OF THE COMPLEX PLANT REMEDY "TIREOTON"

Y.G. Razuvaeva [1, 3], S.M. Nikolaev [1, 2, 3], N.V. Verlan [3], I.P. Ubeeva [2, 3], V.V. Ayusheeva [1]

[1] Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia
[2] Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia
[3] Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

To study the probable negative influence of the complex remedy "Tireoton" on the reproductive function of the laboratory animals the following tests have been carried out, namely the probable occurrence of embryo-toxicity, teratogenicity, foetotoxicity and its influence on the postnatal development of the laboratory animals progeny. The experiments have been carried out of the white Wistar rats. It has been established that the "Tireoton" at the doses of 75 and 750 mg/kg has no embryotoxic, teratogenic and fetotoxical effect. The introduction of the "Tireoton" at the dose of 750 mg/kg since 6th to 19th day of pregnancy does not influence on the postnatal development of white rats progeny.

Key words: *complex plant remedy, Potentilla alba* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Rhodiola rosea* L., *embryo-toxicity, teratogenicity, foetotoxicity, postnatal development*

В связи с неуклонным увеличением количества заболеваний щитовидной железы актуален поиск новых лекарственных средств, обладающих тиреотропным действием. Перспективным растением в лечении и профилактики заболеваний щитовидной железы является лапчатка белая (*Potentilla alba L.*) [2, 4, 5]. С учетом патогенеза гипотиреоза на основе данного лекарственного растения разработано многокомпонентное средство, условно названное «Тиреотон», в состав которого входят сухой экстракт из корневищ с корнями лапчатки белой (*Potentilla alba* L.), сухой экстракт шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi), сухой экстракт родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) в соотношении 50 %, 25 % и 25 % соответственно. Ранее было установлено, что данная растительная композиция в экспериментально-терапевтических дозах корригирует тиреоидный статус, восстанавливает структуру щитовидной железы, снижает уровень тревожности и нормализует когнитивные функции у белых крыс при экспериментальном гипотиреозе [1, 3]. В опытах на мышах выявлено, что «Тиреотон» способен ослаблять супрессивное действие цитостатика азатиоприна на антителогенез, клеточноопосредованную иммунную реакцию гиперчувствительности замедленного типа и фагоцитоз макрофагов [9].

Важным этапом при разработке нового лекарственного средства является проведение доклинических исследований по оценке его безопасности. На сегодняшний день установлено, что «Тиреотон» относится к группе практически нетоксичных веществ, не оказывает отрицательного влияния на основные звенья иммунной реакции, что свидетельствует об отсутствии у испытуемого средства иммунотоксических свойств [9].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка возможной репродуктивной токсичности комплексного средства «Тиреотон».

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).

Возможное эмбриотоксическое, тератогенное и фетотоксическое влияние «Тиреотона» исследовали, согласно методическим указаниям по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ [7] на 20-дневных плодах, полученных от половозрелых самок белых крыс массой 180–200 г и самцов массой 200–250 г. «Тиреотон» в дозе 750 мг/кг вводили животным по следующим схемам: 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 75 мг/кг – с 1-х по 19-е сутки беременности. Животные контрольной группы получали очищенную воду с 1-х по 19-е сутки. На 20-й день эмбрионального периода подсчитывали количество желтых тел в яичниках, число мест имплантаций, количество живых и мертвых плодов, а также резорбций. По данным параметрам вычисляли предимплантационную, постимплантационную и общую эмбриональную смертность [7]. 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 [7]. Для изучения состояния скелета остальные плоды фиксировали в 96° этаноле. Состояние костной системы исследовали по методу Доусона [6].

Влияние «Тиреотона» на постнатальное развитие потомства белых крыс оценено согласно методическим указаниям [7]. Испытуемое средство в дозе 750 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 60-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 [3] 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). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез $p = 0,05$ [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что у самок белых крыс, получавших экстракт «Тиреотон» в дозах 75 и 750 мг/кг, все показатели эмбриолетальности (количество мест имплантаций, количество живых плодов и число резорбций) не имели значимых различий с таковыми у самок контрольной группы. У животных, получавших «Тиреотон» в дозе 75 мг/кг с 1-го по 19-й день и в дозе 750 мг/кг с 1-го по 6-й день эмбрионального периода, показатель предимплантационной смертности был в 2,0 раза ниже такового в контрольной группе. Постнатальная смертность на фоне введения «Тиреотона» в дозе 75 мг/кг также была в 2,0 раза ниже, по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе. Введение животным «Тиреотона» в дозе 750 мг/кг в период органогенеза не оказывало влияние на показатель постнатальной смертности.

При внешнем осмотре плодов каждого помета видимые внешние аномалии развития обнаружены не были. При исследовании тератогенного действия

Таблица 1

Исследование эмбриотоксического и тератогенного действия «Тиреотона» на белых крысах

Показатели	Группы животных				
	Контроль	«Тиреотон»			
Доза	–	75 мг/кг	750 мг/кг		
Дни ведения	1–19	1–19	1–6	6–16	16–19
Число беременных самок	12	12	12	11	12
Количество желтых тел	101 / 8,5	99 / 8,3	104 / 8,7	97 / 8,8	95 / 7,9
Число мест имплантаций	96 / 8,0	97 / 8,1	102 / 8,5	93 / 8,4	95 / 7,9
Число живых плодов	94 / 7,8	96 / 8,0	101 / 8,4	91 / 8,3	94 / 7,8
Число резорбций	6	2	3	4	1
Предимплантационная смертность, %	5,0	2	1,9	4,1	0
Постимплантационная смертность, %	2,1	1	1	2,2	1,1
Общая эмбриональная смертность, %	6,9	3	3	6,2	1,1
Масса плодов, г	2,1 ± 0,06	2,2 ± 0,04	2,2 ± 0,05	2,1 ± 0,04	2,1 ± 0,04
Кранио-каудальный размер плодов, см	3,2 ± 0,05	3,2 ± 0,04	3,1 ± 0,03	3,1 ± 0,06	3,0 ± 0,04

Примечание. В числителе – общее количество; в знаменателе – количество на одну крысу.

«Тиреотона» на основании микроанатомического изучения внутренних органов и аномалий в костной системе эмбрионов существенных отклонений от контрольных показателей выявлено не было.

Введение самкам «Тиреотона» в дозе 750 мг/кг с 6-го по 19-й день беременности не оказывало влияния на постнатальное развитие потомства. У животных опытной группы что гибель крысят наблюдалась только в первые трое суток и составила 4,1 %, тогда как в контрольной группе – 6,2 %. Прирост массы тела и линейные размеры крысят от самок, получавших «Тиретон», не отличались от показателей крысят контрольной группы (рис. 1, 2).

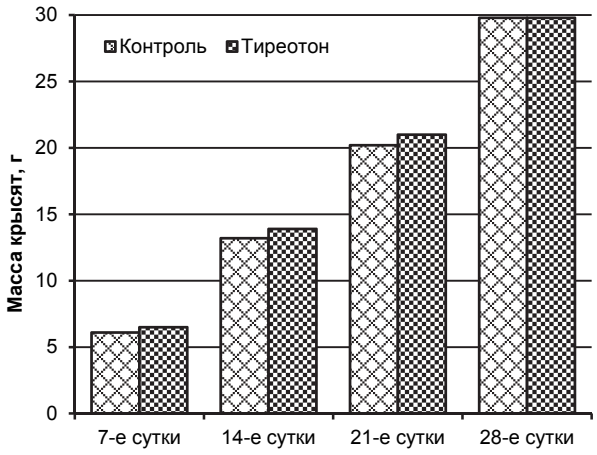

Рис. 1. Влияние «Тиреотона» на прирост массы тела крысят.

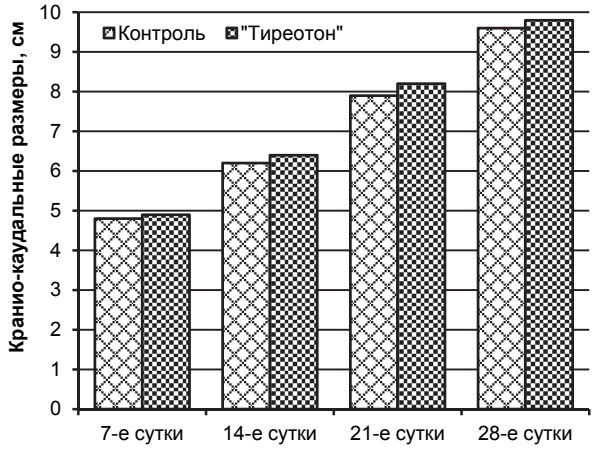

Рис. 2. Влияние «Тиреотона» на линейные размеры крысят.

Таким образом, «Тиреотон» в дозах 75 и 750 мг/кг не оказывает эмбриотоксического, тератогенного и фетотоксического эффекта. Введение самкам белых крыс в период органогенеза и фетогенеза «Тиреотона» в дозе 750 мг/кг не оказывает влияния на постнатальное развитие потомства лабораторных животных.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Архипова Э.В. Влияние экстракта лапчатки белой и «Тиреотона» на функциональное состояние центральной нервной системы у крыс // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 1, Ч. 2. – С. 113–115.

Arkhipova EV (2011). The influence of dry extract of white cinquefoil and "Tireoton" on the functional status of central nervous system of rats [Vliyanie ekstrakta lapchatki beloy i "Tireotona" na funktsional'noe sostoyanie tsentral'noy nervnoy sistemy u krys]. *Byul. VSNTs SO RAMN*, 1 (2), 113-115.

2. Архипова Э.В., Водопьянова А.М., Колхир В.К. Влияние экстракта сухого лапчатки белой на течение экспериментального гипотиреоза // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 1. – С. 116–118.

Arkhipova EV, Vodopyanova AM, Kolkhir VK (2011). The influence of dry extract of *Potentilla alba* L. on current experimental hypothyroidism [Vliyanie ekstrakta sukhogo lapchatki beloy na techenie eksperimental'nogo gipotireoza]. *Byul. VSNTs SO RAMN*, (1), 116-118.

3. Архипова Э.В., Дамдинова Г.Х. Влияние «Тиреотона» на морфофункциональное состояние щитовидной железы при экспериментальном гипотиреозе // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 6. – С. 56–59.

Arkhipova EV, Damdinova GK (2012). Epy influence of «Tireoton» on morphological state of thyroid gland at the experimental hypothyroidism [Vliyanie «Tireotona» na morfofunktsional'noe sostoyanie shchitovidnoy zhelezy pri eksperimental'nom gipotireoze]. *Byul. VSNTs SO RAMN*, (6), 56-59.

4. Архипова Э.В., Етобаева И.Г. Антиоксидантные свойства сухого экстракта лапчатки белой в эксперименте *in vitro* // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2015. – № 2. – С. 53–56.

Arkhipova EV, Yetobaeva IG (2015). Antioxidant properties of *Potentilla alba* L. dry extract in the *in vitro* experiment [Antioksidantnye svoystva sukhogo ekstrakta lapchatki beloy v eksperimente *in vitro*]. *Byul. VSNTs SO RAMN*, (2), 53-56.

5. Башилов А.В. Использование Potentilla alba L. в качестве лекарственного растительного сырья в условиях республики Беларусь // Экологический вестник. – 2010. – № 3 (13). – С. 85–88.

Bashilov AV (2010). Using *Potentilla alba* L. as a plant remedy in the conditions of the Republic of Belarus [Ispolzovanie *Potentilla alba* L. v kachestve lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya v usloviyakh respubliki Belarus']. *Ekologicheskiy vestnik*, 3 (13), 85-88.

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

Dyban AP (1974). Teratological experiment on mammals [Tekhnika teratologicheskogo eksperimenta na mlekopitayushchikh]. *Metody biologii razvitiya*, 299-313.

7. 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 eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv], 832.

8. 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 [Matematicheskaya statistika v klinicheskikh issledovaniyakh], 256.

9. Хобракова В.Б., Архипова Э.В. Иммунокорригирующее действие сухого экстракта лапчатки белой и комплексного средства «Тиреотон» // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 7. – С. 121–123.

Khobrakova VB, Arkhipova EV (2011). Immunocorrecting effect of the *Potentilla alba* L. dry extract and complex remedy "Tireoton" [Immunokorrigiruyushchee deystvie sukhogo ekstrakta lapchatki beloy i kompleksnogo sredstva "Tireoton"]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, (7), 121-123.

Сведения об авторах
Information about the authors

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, старший преподаватель медицинского института ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (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 Gennadjevna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Senior Lecturer of Medical Institute of Buryat State University (670047, Ulan-Ude, ul. Sakhyanova str., 6; tel. +7 (3012) 43-37-13, fax: +7 (3012) 43-30-34; e-mail: tatur75@mail.ru)

Николаев Сергей Матвеевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и традиционной медицины ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», кафедры клинической фармакологии ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (e-mail: smnikolaev@mail.ru).
Nikolaev Sergey Matveevich – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Pharmacology and Conventional Medicine of Buryat State University, Professor of the Department of Clinical Pharmacology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Chief Research Officer of the Laboratory of Experimental Pharmacology of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: smnikolaev@mail.ru).

Верлан Надежда Вадимовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, руководитель Регионального центра мониторинга безопасности лекарственных средств (664049, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 46-53-26; e-mail: nadverarlan@mail.ru)
Verlan Nadezhda Vadimovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Head of the Regional Center of Drug Safety Monitoring (664049, Irkutsk, Yubileynyi, 100; tel. +7 (3952) 46-53-26; e-mail: nadverarlan@mail.ru)

Убеева Ираида Поликарповна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», профессор кафедры клинической фармакологии ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а; тел.: 8 (3012) 44-82-55; e-mail: ubeeva.ip@mail.ru)
Ubeeva Iraida Polikarpovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases of the Buryat State University, Professor of the Department of Clinical Pharmacology of Irkutsk State Academy of Continuing Education (670000, Ulan-Ude, ul. Smolina, 24a; tel.: +7 (3012) 44-82-55; e-mail: ubeeva.ip@mail.ru)

Аюшеева Виктория Валерьевна – ведущий инженер лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН
Ayusheeva Victoria Valerjevna – Chief Engineer of the Laboratory of Safety of Biological Active Substances of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS.