

**ВЛИЯНИЕ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ
С АНТИДЕПРЕССАНТНЫМ И АНКСИОЛИТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЯМИ
НА ПРОЦЕССЫ ПРЕНАТАЛЬНОГО
И ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ПОТОМСТВА**

**Л.И. Бугаёва, Т.Д. Денисова, И.Н. Тюренок, Ю.А. Мазанова,
Н.М. Щербакова, Л.М. Ганичева**

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

В экспериментах на крысах установлено, что новое производное глутаминовой кислоты (нейроглютам) при внутрижелудочном введении в дозах 26 мг/кг (терапевтическая доза) и 650 мг/кг (25-кратная терапевтическая доза) в период органогенеза (6–16-е дни беременности) не оказывает органо- и фетотоксического действия, регистрируемого в антенатальный и постнатальный периоды развития плодов. У беременных самок крыс под действием нейроглутама снижались до- и постимплантационная гибель плодов, не изменялись плодовитость и качество антенатального развития плодов. Выявлено, что у потомств от самок крыс, получавших в период органогенеза нейроглютам, повышался прирост массы тела, опережались сроки открытия глаз, формирования зрачкового рефлекса, избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом, а также активировалось двигательное поведение в 20-дневном возрасте. При этом у 1,5 и 2-месячных крыс поведенческая активность и мнестические реакции были на уровне значений контрольной группы.

Ключевые слова: нейроглютам, эксперименты на беременных крысах самках, антенатальное и постнатальное развитие потомства.

DOI 10.19163/1994-9480-2019-4(72)-65-68

**INFLUENCE NEW DERIVATIVE GLUTAMIC ACID WITH ANTIDEPRESSANT
AND ANXIOLYTIC ACTIONS ON PROCESSES OF PRENATAL
AND POST-NATAL DEVELOPMENT OF POSTERITY**

**L.I. Bugaeva, T.D. Denisova, I.N. Tyurenkov, Yu.A. Mazanova,
N.M. Scherbakova, L.M. Ganicheva**

FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation

In experiments on rats, it was found that a new derivative of glutamic acid (neuroglutam) when administered intragastrically at doses of 26 mg/kg (therapeutic dose) and 650 mg/kg (25-fold therapeutic dose) during organogenesis (6–16 days pregnancy) does not have an organo- and fetotoxic effect, recorded in the antenatal and postnatal periods of fetal development. In pregnant female rats, under the influence of neuroglutam, pre- and post-implantation death of fetuses decreased, and the fecundity and quality of antenatal development of the fetuses did not change. It was revealed that in offspring, from female rats receiving neuroglutam during organogenesis, the increase in body weight increased, the timing of opening the eyes, the formation of the pupil reflex, the avoidance of clipping caused by visual stimulus were ahead of time, and motor behavior was activated at 20 days of age. Moreover, in 1,5 and 2 month old rats, behavioral activity and mnesic reactions were at the level of the control group.

Key words: neuroglutam, experiments on pregnant rats females, antenatal and post-natal development of posterity.

Новое производное глутаминовой кислоты (нейроглютам) с поливалентным типом действия [1, 2, 3, 9] относится к разряду малотоксичных (ЛД₅₀ при внутрижелудочном введении крысам самкам составляет 6976,79 мг/кг) [2], с широким диапазоном терапевтического индекса – 272 у.е. [9], перспективен для дальнейшего доклинического исследования с целью внедрения в клиническую практику. При этом известно наличие угнетающего влияния некоторых анксиолитиков (феназепам, диазепам и др.) и антидепрессантов (амитриптилина, имизина, ингибиторов МАО) не только на психоэмоциональное поведение, но и их негативное влияние на процессы формирования потомства в раннем и отдаленном периодах развития (сонливость, вялость, расстройство ЦНС) при использовании их беременными женщинами.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

В этой связи в настоящей работе сочли целесообразным исследовать влияние нейроглутама на процессы органогенеза, регистрируемые в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены в 2 этапа на 100 виргинных половозрелых нелинейных белых крысах самках 4-месячного возраста, массой тела 200–240 г и 40 потомствах крысят (240 особей, полученных от беременных крыс самок, участвующих в эксперименте), закупленных в специализированном питомнике ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт»

Роспотребнадзора. Содержание животных и проведение на них манипуляций соответствовало нормативным правилам лабораторной практики, утвержденным МЗ РФ приказ № 199Н от 10 апреля 2016 г. и методическим рекомендациям по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств [7], а также протоколу, утвержденному локальным этическим комитетом за № 140-2011 от 11.06.2011 г.

На первом этапе исследований нейроглутам (производства РГПУ имени А.И. Герцена) в форме субстанции вводили интрагастрально беременным крысам самкам в дозах: 26 мг/кг (терапевтическая доза ТД) и 650 мг/кг (25-кратная ТД) [1, 2, 9], соответственно – 1-я и 2-я опытные группы с 6-го по 16-й дни беременности (период органогенеза). На 2-м этапе исследований нейроглутам вводили беременным крысам самкам в дозе 650 мг/кг (3-я опытная группа) с 6-го дня беременности и до родов. Контрольным группам крыс самок в указанные сроки вводили дистиллированную воду в объеме 10 мл/кг, что соответствовало объему разведения испытуемой субстанции (соответственно 1-я и 2-я контрольные группы). В каждую исследуемую группу входило 20 беременных крыс. Первым днем беременности у самок, накануне спаренных с самцами, считали день обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке. В период беременности у самок отмечали состояние и прирост массы тела (г). На 1-м этапе беременных самок на 20-й день подвергали эктаназии (метод дислокации шейных позвонков) [6, 7] и некропии. На вскрытии выделяли яичники и рога матки. В яичниках подсчитывали количество желтых тел, в рогах матки – количество живых, мертвых и резорбированных плодов. На основании этих данных вычисляли пред- и постимплантационную гибель [7]. Выделенные из рогов матки плоды визуально осматривали, измеряли массу тела (г) и краниокаудальные размеры (см), а затем делили на 2 части. Одну часть плодов исследовали по методу Вильсона [7] на предмет обнаружения аномалий развития внутренних органов, другую часть плодов исследовали по методу Доусона для оценки состояния скелета [7].

При проведении второго этапа исследований беременных крыс самок оставляли до родоразрешения, затем наблюдения вели за их пометами крысят. У разродившихся самок оставляли фиксированный, по 6 особей, помет. После рождения исследуемые пометы крысят находились вместе с крысой матерью в течение 1-го месяца, в последующем их отсаживали и расформировывали по полу. Наблюдения за потомствами вели до двухмесячного возраста [4, 7]. Физическое развитие, формирование сенсорно-двигательных рефлексов, поведенческие и мнестические реакции оценивали у потомств крыс согласно общепринятым методическим подходам [4, 7].

Результаты исследований подвергали статистической обработке с использованием пакета

программ Microsoft Excel. Достоверность изменений в опытной группе относительно группы контроль оценивали с помощью t-критерия Стьюдента [5, 7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У беременных крыс самок, получавших нейроглутам в период органогенеза (1-я и 2-я опытные группы), не зарегистрировано изменений в общем состоянии. Прирост массы тела у этих крыс самок с 1-го по 6-й дни беременности не различался с данными контроля, а после периода (с 6 по 16-й дни беременности) введения им нейроглутама несколько активизировался. При этом относительно контроля прирост массы тела у самок в 1-й опытной группе на 16-й и 20-й дни беременности был выше на 26,9 % ($p < 0,05$) и 47,6 % ($p < 0,05$) соответственно. У 2-й группы опытных самок прирост массы тела в этот период измерений не различался с контролем (табл. 1).

Таблица 1

Влияние нейроглутама (внутрижелудочно, 6–16-й дни беременности) на процессы органогенеза крыс ($M \pm m$)

Исследуемые параметры (на 1 самку)	Варианты опытов		
	контрольная группа 1	опытная группа 1, нейроглутам, 26 мг/кг	опытная группа 2, нейроглутам, 650 мг/кг
Желтые тела, количество	12,60 ± 0,22	12,00 ± 0,39	11,10 ± 0,35**
Места имплантаций, количество	10,90 ± 0,53	11,3 ± 0,4	10,10 ± 0,29
Количество плодов	10,60 ± 0,52	11,3 ± 0,4	10,0 ± 0,3
Резорбция плодов, количество	0,30 ± 0,13	0*	0,10 ± 0,05
Доимплантационная гибель, %	12,90 ± 2,19	6,20 ± 1,23*	8,60 ± 2,31
Послеимплантационная гибель, %	2,50 ± 1,04	0*	0,5 ± 0,5
Размеры плода, см	3,10 ± 0,04	3,10 ± 0,02	3,00 ± 0,02*
Масса плода, г	2,30 ± 0,05	2,30 ± 0,04	2,20 ± 0,05*

* $p < 0,05$ – различия достоверны относительно контроля.

При некропии отмечено, что у беременных крыс самок в 1-й опытной группе, относительно контроля, отсутствовали статистически значимые различия по количеству желтых тел в яичниках и местах имплантаций в рогах матки. При этом также отмечено наличие статистически незначимого, но отчетливого повышения мест имплантаций (на 3,7 %, $p > 0,05$), что в последующем положительно сказалось на плодовитости, которая возросла на 6,6 % ($p > 0,05$) и общей эмбриональной

гибели, в которой были снижены на 51,9 % ($p < 0,05$) доимплантационная гибель плодов и на 100 % ($p < 0,05$) послеимплантационная (табл. 2). При обследовании выделенных плодов не обнаружено уродств, внешне видимых аномалий развития, а также подкожных и внутренних геморрагий. Краниокаудальные размеры и масса тела у этих плодов не различались с контролем (табл. 2).

Таблица 2

Прирост массы тела (г) потомства от крыс самок, получавших нейроглутам (с 6-й по 20-й дни беременности) в дозе 650 мг/кг ($M \pm m$)

Периоды измерений, дни	Варианты опытов	
	контрольная группа 2	опытная группа 3, нейроглутам, 650 мг/кг
7	16,40 ± 0,33	18,10 ± 0,37*
21	41,40 ± 0,48	43,70 ± 0,58*
30	69,30 ± 0,81	73,70 ± 0,92*
60	124,10 ± 1,92	125,6 ± 0,9

* $p < 0,05$ – различия достоверны относительно контроля.

У крыс самок во 2-й опытной группе, относительно контроля отмечено статистически незначимое снижение мест имплантаций (на 7,3 %, $p > 0,05$), плодовитости (на 5,7, $p > 0,05$) и числа резорбированных плодов (на 66,7, $p > 0,05$), что также положительно сказалось на снижении до- (на 33,3 %, $p > 0,05$) и послеимплантационной гибели (на 80 %, $p > 0,05$) плодов. При обследовании плодов, так же, как и в первой группе, не обнаружено уродств, внешне видимых аномалий развития, подкожных и внутренних геморрагий, а краниокаудальные размеры и их массы были в пределах физиологической нормы ниже контрольных значений на 3,2 % ($p < 0,05$) и 4,3 % ($p < 0,05$) соответственно (табл. 2). При обследовании внутренних органов плодов по методу Вильсона [7] у 1-й и 2-й опытных групп эмбрионов не зафиксировано подкожных и внутренних кровоизлияний и аномалий развития. При оценке состояния скелета у плодов от самок 1-й и 2-й опытных групп по методу Доусона [7] не обнаружено изменений в количестве заложенных точек оксификации скелета, что может свидетельствовать об отсутствии изменений в процессах их антенатального развития.

Таким образом, по результатам проведенных исследований, можно заключить, что нейроглутам при внутрижелудочном введении с 6-го по 16-е дни беременным крысам самкам в дозах 26 и 650 мг/кг не оказывает эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемого в антенатальном периоде развития плодов.

У потомства крысят в опытной группе прирост массы тела на протяжении первого месяца постнатальной жизни опережал контрольные значения: на 1,7 г ($p < 0,05$) 7-й день; на 2,3 г ($p < 0,05$) 21-й день; на 4,4 г ($p < 0,05$) 30-й день. После отсаживания крыс матерей от потомства прирост их массы тела

выравнивался с данными контроля и к двухмесячному возрасту не различался в группах (табл. 3).

Таблица 3

Двигательное поведение (тест «открытое поле 1») 20 крысят от крыс самок, получавших нейроглутам (с 6 по 20 дни беременности) в дозе 650 мг/кг ($M \pm m$)

Исследуемые параметры	Варианты опытов	
	контрольная группа 2	опытная группа 3, нейроглутам, 650 мг/кг
Горизонтальная активность	24,6 ± 0,76	31,7 ± 0,71*
Вертикальная активность	4,2 ± 0,31	5,3 ± 0,52
Исследовательская активность	1,5 ± 0,18	2,5 ± 0,31*
Акты груминга	1,1 ± 0,10	1,6 ± 0,15*
Акты дефекаций	0,8 ± 0,12	1,0 ± 0,13

* $p < 0,05$ – различия достоверны относительно контроля.

В физическом развитии у потомств опытных крысят существенных различий не обнаружено, за исключением опережения открытия глаз (на 0,7 дня, $p < 0,001$) и выполнения рефлексов, «зрачкового рефлекса» (на 0,9 дня, $p < 0,001$), «избегания обрыва, вызванного визуальным стимулом» (на 1,1 дня, $p < 0,001$) и «переворачивания в свободном падении» (на 1,0 день, $p < 0,001$), а также запаздывания «переворачивание на плоскости» (на 0,6 дня, $p < 0,01$). Вместе с тем указанные изменения не выходили за рамки физиологической нормы [8]. Сроки полового созревания у опытной группы крысят соответствовали физиологической норме и не различались с данными контроля [8]. В поведении опытной группы крысят 20-дневного возраста отмечено повышение горизонтальной и исследовательской подвижности на 28,9 % ($p < 0,05$) и 66,7 % ($p < 0,05$), соответственно и актов груминга (на 45,4 %, $p < 0,05$). В исследованиях поведенческой активности на этом же потомстве, проведенных на крысах 45-дневного возраста, различий с контролем не обнаружено. По результатам исследований мнестических реакций (тест «УРПИ») у потомства опытных крыс двухмесячного возраста не выявлено различий с контролем по характеру обучения и воспроизведения памятного следа.

Таким образом, из проведенных исследований можно сделать заключение, что нейроглутам при внутрижелудочном введении беременным крысам самкам в дозе 650 мг/кг с 6-го дня беременности и до родов не оказывает повреждающего влияния на процессы антенатального развития плодов крыс, регистрируемых в постнатальном периоде. Эффекты активации прироста массы тела, а также отдельных параметров физического развития и поведенческой активности, зафиксированные у опытного потомства крысят в период первого месяца их постнатальной жизни, вероятно, могут быть обусловлены как особенностями фармакокинетики, так и механизмом антидепрессивного действия

нейроглутам, который двухнедельным курсом вводили крысе самке до родов, а также и возможным положительным влиянием исследуемого препарата на процессы лактации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Новое производное глутаминовой кислоты (нейроглутам) при внутрижелудочном введении с 6-го по 16-е дни беременным крысам самкам в дозах 26 мг/кг и 650 мг/кг не оказывает эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемого в антенатальном периоде развития плодов.

2. Новое производное глутаминовой кислоты (нейроглутам) при внутрижелудочном введении беременным крысам самкам в дозе 650 мг/кг с 6-го дня беременности и до родов не оказывает повреждающего влияния на процессы антенатального развития плодов крыс, регистрируемых в постнатальном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Багметова В.В., Бугаева Л.И., Тюренок И.Н., Чернышева Ю.В., Кузубова Е.А., Степанова Э.Ф., Шевченко А.М. Изучение токсических свойств гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты (нейроглутам) в лекарственной форме при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам // Вопросы биолог., медицин. и фармацев. химии. – 2014. – Т. 7, № 12. – С. 33–38.
2. Бугаева Л.И., Тюренок И.Н., Багметова В.В., Чернышева Ю.В., Кузубова Е.А. Острая токсичность субстанции гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам // Вестник Волгоградского госуд. медицин. университета. – 2012. – Т. 44, № 4. – С. 34–37.
3. Бугаева Л.И., Кузубова Е.А., Мальцев М.В., Морозова Ю.А., Тюренок И.Н., Багметова В.В. Влияние нового производного глутаминовой кислоты (нейроглутам) с антидепрессивной активностью на генеративную функцию крыс-самцов // Эксперимен. и клинич. фармакология. – 2017. – Т. 80, № 3. – С. 10–13.
4. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – М., 1991.
5. Гумблер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – М., 1978.
6. Матюшин А.И., Осняч В.С., Павлова Т.Н. Деонтология медико-биологического эксперимента. – М., 1987.
7. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М., 2012.
8. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Онисенко Ф.А. Проблемы нормы в токсикологии. – М., 1991.
9. Тюренок И.Н., Багметова В.В., Чернышева Ю.В., Меркушенкова О.В. Дозозависимое влияние гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты (нейроглутам) на

поведение животных // Бюлл. эксперим. биолог. и медиц. – 2014. – Т. 158, № 8. – С. 196–201.

REFERENCES

1. Bagmetova V.V., Bugaeva L.I., Tjurenkov I.N., Chernysheva Ju.V., Kuzubova E.A., Stepanova Je.F., Shevchenko A.M. Izuchenie toksicheskikh svojstv gidrohlorida beta-fenilglutaminovoj kisloty (nejroglutama) v lekarstvennoj forme pri odnokratnom vnutrizheludochnom vvedenii mysham i krysam [Studying of toxic properties of a hydrochloride beta fenilglutaminovy acids (neyroglutama) in a dosage form at single intragastric introduction to mice and rats]. *Voprosy biolog., medicin. i farmacev. himii* [Questions of biology, medicine and pharmaceutical chemistry], 2014, Vol. 7, no. 12, pp. 33–38. (In Russ.; abstr. in Engl.)
2. Bugaeva L.I., Tjurenkov I.N., Bagmetova V.V., Chernysheva Ju.V., Kuzubova E.A. Ostraja toksichnost' substancii gidrohlorida β-fenilglutaminovoj kisloty pri odnokratnom vnutrizheludochnom vvedenii mysham i krysam [Acute toxicity of substance of a hydrochloride of β-fenilglutaminovy acid at single intragastric introduction to mice and rats]. *Vestnik Volgogradskogo gosud. medicin. universiteta* [Journal of Volgograd state medical university], 2012, Vol. 44, no. 4, pp. 34–37. (In Russ.; abstr. in Engl.)
3. Bugaeva L.I., Kuzubova E.A., Mal'cev M.V., Morozova Ju.A., Tjurenkov I.N., Bagmetova V.V. Vlijanie novogo proizvodnogo glutaminovoj kisloty (nejroglutam) s anti-depressivnoj aktivnost'ju na generativnuju funkciju krys-samcov [Influence new derivative glutamic acid (neyrogluta) with anti-depressive activity on generative function of rats males]. *Jeksperimen. i klinich. farmakologija* [Experimental and Clinical Pharmacology], 2017, Vol. 80, no. 3, pp. 10–13. (In Russ.; abstr. in Engl.)
4. Buresh Ja., Bureshova O., H'juston D.P. Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija [Techniques and the main experiments on studying of a brain and behavior]. Moscow, 1991.
5. Gumbler E.V. Vychislitel'nye metody analiza i raspoznavanija patologicheskikh processov [Computing methods of the analysis and recognition of pathological processes]. Moscow, 1978.
6. Matjushin A.I., Osnjach V.S., Pavlova T.N. Deontologija mediko-biologicheskogo jeksperimenta [Deontology of medical and biological experiment]. Moscow, 1987.
7. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv [Guidelines for preclinical drug research]. Moscow, 2012.
8. Trahtenberg I.M., Sova R.E., Sheftel' V.O., Onikenko F.A. Problemy normy v toksikologii [Norm problems in toxicology]. Moscow, 1991.
9. Tjurenkov I.N., Bagmetova V.V., Chernysheva Ju.V., Merkushejkova O.V. Dozozavisimoe vlijanie gidrohlorida beta-fenilglutaminovoj kisloty (nejroglutama) na povedenie zhivotnyh [Dose-dependent influence of a hydrochloride beta fenilglutaminovy acids (neyroglutama) on behavior of animals]. *Bjull. jeksperim. biolog. i medic.* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine], 2014, Vol. 158, no. 8, pp. 196–201. (In Russ.; abstr. in Engl.)

Контактная информация

Бугаева Любовь Ивановна – д. б. н., зам. директора, зав. лабораторией токсикологии НЦИЛС с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: li_bugaeva@mail.ru