

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 615.099.06+615.015.5

doi: 10.19163/1994-9480-2021-4(80)-144-148

ПОСТНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА ОТ КРЫС САМОК, ПОЛУЧАВШИХ АДЕПРОФЕН В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ

Л.И. Бугаева, Т.Д. Денисова, Ю.А. Мазанова, Н.С. Мелихова, А.А. Озеров

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

Автор, ответственный за переписку: Любовь Ивановна Бугаева, li_bugaeva@mail.ru

Аннотация. В исследованиях на потомстве крысят, рожденных от крыс самок, получавших в период беременности субстанцию адепрофена (новый аналог пуринового нуклеозида аденозина) в дозе 150 мг/кг (15-кратная терапевтическая доза), не установлено различий с контролем по приросту массы тела, но при этом отмечалось статистически значимое опережение сроков отлипания ушной раковины, открытия глаз и созревания сенсорно-двигательных рефлексов, таких как формирование «отрицательного геотаксиса», «зрачкового рефлекса», «избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом» и «переворачивание в свободном падении». В поведенческой активности у потомства исследуемой группы крысят 20-дневного возраста прослеживалась активизация горизонтальной подвижности, обследования норки и актов груминга, а у этих же крысят в 1,5-месячном возрасте различий с контролем не обнаружено. Проведенные исследования позволяют сделать заключение об отсутствии отдаленного влияния субстанции адепрофена на развитие потомства крысят, регистрируемых в постнатальном периоде. Отмеченные же изменения отдельных параметров физического развития и формирования сенсорно-двигательных рефлексов не выходили за рамки физиологической нормы.

Ключевые слова: ароматический аналог пуринового нуклеозида аденозина, адепрофен, постнатальный период, потомство, неполовозрелые крысы, физическое развитие

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

POSTNATAL DEVELOPMENT OF POSTERITIES FROM FEMALE RATS TREATED WITH ADEPROFEN DURING PREGNANCY

L.I. Bugaeva, T.D. Denisova, Y.A. Mazanova, N.S. Melichova, A.A. Ozerov

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Corresponding author: Lyubov I. Bugaeva, li_bugaeva@mail.ru

Abstract. In researches on the posterities of rats been born from rats of females who received adeprofen substance during pregnancy (a new analogue of the purine nucleoside adenosine) at a dose of 150 mg/kg (15 times the therapeutic dose), it is not established differences with the control by body weight increase, but at it, a noting statistically significant advance of ear otlipanie, eye opening and sensory-motor reflexes maturation, such as: formation of "negative geotaxis," pupil reflex, "visual stimulus-induced cliff avoidance," and "turning over in free fall". In behavioral activity, in the posterities of the study group of rats of 20-day age there was an activation of horizontal mobility, inspection of minks and acts of grooming, and in the same rats at 1,5 months age there were no differences with control. The conducted researches allow to make the conclusion about absence is influence of adeprofen substance on the development of posterity rats, registered in the postnatal period. The noted changes in separate parameters of physical development and formation of sensory-motor reflexes did not go beyond the physiological norm.

Keywords: aromatic analogue of purine nucleoside adenosine, adeprofen, post-natal period, posterity, nepolovozrely rats, physical development

Новый аналог пуринового нуклеозида аденозина (адепрофен) обладающий антидепрессивной активностью [1] и низкой токсичностью (ЛД₅₀ при внутрижелудочном введении крысам составляет 4 811,7 мг/кг)

[2, 3, 4], в ранее проведенных доклинических исследованиях по оценке репродуктивной токсичности показал отсутствие влияния на процессы антенатального развития плодов при условии введения беременным крысам

самкам в период органо- и фетогенеза в дозах 10 мг/кг (экспериментально терапевтическая доза) и 150 мг/кг (15-кратная терапевтическая доза) [5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследовать отдаленное влияние адепрофена при его введении беременным крысам самкам в дозе 150 мг/кг на развитие потомства крыс в онтогенезе.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 40 потомствах крыс, от беременных крыс самок, разделенных на две равные группы: опыт и контроль. Опытной группе беременных крыс субстанцию адепрофена (синтезирована на базе НИИ фармакологии Волгоградского медицинского университета [6]) вводили внутривентрикулярно в дозе 150 мг/кг (превышающая в 15 раз терапевтическую дозу) с 6-го дня беременности и до родов. Контрольной группе в эти же сроки внутривентрикулярно вводили дистиллированную воду в дозе 10 мл/кг. Данный объем дистиллированной воды соответствовал дозе его введения при растворении субстанции адепрофена. Содержание животных и проведение на них манипуляций проводилось с учетом нормативных правил лабораторной практики, утвержденных МЗ РФ Приказ № 199Н от 10 апреля 2016 г. и методических рекомендаций по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств [7], а также протокола, утвержденного локальным этическим комитетом за № 140-2011 от 11.06.2011 г. После родоразрешения лактирующих самок отсаживали и дальнейшие наблюдения вели за потомствами крысят до достижения ими двухмесячного возраста.

В период исследований у крыс самок отмечали общее состояние и прирост массы тела (г). После родов, в каждом помете, у крыс матерей оставляли по 6 крысят. В дальнейшем наблюдения проводили за потомствами крысят, у которых изучали физическое развитие (измерение массы тела (г), оценивали в днях сроки отлипания ушной раковины, появления волосяного покрова, прорезывания резцов, открытия глаз, поднятия

головы, опускания семенников и открытия вагины), формирования сенсорно-двигательных рефлексов («переворачивание на плоскости», «отрицательный геотаксис», «мышечную силу» и др.), а также поведенческую активность (тест «открытое поле», на 20-й и 45-й дни) и способности потомства к обучению и памяти (тест «УРПИ» на 60-й день) [7, 8].

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.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам наблюдений у беременных крыс самок в опытной и контрольной группах не отмечено различий в общем состоянии и поведении. Шерстный покров у них был гладкий, белый и лоснящийся, слизистые оболочки прозрачные, видимые кожные покровы чистые. Прирост массы тела беременных крыс был положительным в опытной и контрольной группах, существенных различий не наблюдалось. Различий в этих исследуемых группах крыс самок по особенностям периода их гнездования и отношения к появившемуся потомству не отмечено. Случаев отказа от вскармливания крысой матерью новорожденных крысят не наблюдалось.

В исследованиях на потомствах крысят отмечен положительный прирост массы тела в опытной и контрольной группах (табл. 1). В течение первых трех недель наблюдений прирост массы тела у крысят в опытной группе соответствовал приросту массы тела контрольных животных. В дальнейшем, при переходе их на дефинитивное и самостоятельное питание (с 21-й по 30-й дни) прослеживались недостоверные тенденции снижения темпов прироста массы тела в опытной группе, которые в последующем, после пересадки крысят от крыс матерей, были нивелированы и к окончанию 2-месячных наблюдений не отличались от контроля.

Таблица 1

Прирост массы тела потомства, от крыс самок, получавших с 6-го дня беременности и до родов адепрофен в дозе 150 мг/кг ($M \pm m$), г

Периоды измерений, дни	Варианты опытов (дозы веществ)	
	контрольная группа вода дистиллированная	опытная группа адепрофен
4	10,60 ± 0,22	10,60 ± 0,14
7	16,50 ± 0,24	17,20 ± 0,38
14	28,60 ± 0,41	27,00 ± 0,44
21	41,4 ± 0,6	40,00 ± 0,58
30	69,30 ± 0,59	69,40 ± 0,53
60	124,10 ± 1,37	127,00 ± 0,87

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

В наблюдениях за физическим развитием у крысят в опытной группе нарушений не обнаружено, тогда как по отдельным параметрам физического развития относительно контроля отмечено статистически значимое опережение сроков отлипания ушной раковины (на 0,4 дня, $p < 0,05$), открытия глаз (на 0,6 дня, $p < 0,05$). У потомства крысят в опытной группе относительно контроля прослеживалось опережение формирования сенсорно-двигательных рефлексов в тестах «отрица-

тельный геотаксис» (на 0,8 дня, $p < 0,05$), «зрачковый рефлекс» (на 0,6 дня, $p < 0,05$), «избегания обрыва, вызванное визуальным стимулом» (на 0,8 дня, $p < 0,05$), «мышечная сила» (на 1,5 дня, $p < 0,05$) и «переворачивания в свободном падении» (на 0,8 дня, $p < 0,05$), тогда как по другим параметрам достоверных различий не отмечено (табл. 2). Однако отмеченные тенденции опережения физического развития потомства находились в пределах физиологической нормы [9].

Таблица 2

Физическое развитие и сенсорно-двигательные рефлексы потомства от крыс самок, получавших с 6-го дня беременности и до родов адепрофен в дозе 150 мг/кг ($M \pm m$), дни

Исследуемые параметры	Варианты опытов (дозы веществ)	
	контрольная группа вода дистиллированная	опытная группа адепрофен
Отлипание ушной раковины	2,80 $\pm$ 0,09	2,40 $\pm$ 0,06*
Появление волосяного покрова	4,40 $\pm$ 0,06	4,50 $\pm$ 0,06
Прорезывание резцов	8,00 $\pm$ 0,11	7,90 $\pm$ 0,12
Открытие глаз	15,80 $\pm$ 0,05	15,20 $\pm$ 0,13*
Опускание семенников	26,0 $\pm$ 0,1	26,20 $\pm$ 0,18
Открытие вагины	47,00 $\pm$ 0,56	47,50 $\pm$ 0,34
Переворачивание на плоскости	3,60 $\pm$ 0,06	3,80 $\pm$ 0,09
Отрицательный геотаксис	6,40 $\pm$ 0,06	5,60 $\pm$ 0,14*
Избегание обрыва	6,90 $\pm$ 0,04	6,90 $\pm$ 0,13
Зрачковый рефлекс	16,10 $\pm$ 0,08	15,50 $\pm$ 0,07*
Избегание обрыва, вызванное стимулом	16,30 $\pm$ 0,09	15,50 $\pm$ 0,07*
Мышечная сила	18,40 $\pm$ 0,13	16,90 $\pm$ 0,21*
Переворачивание в свободном падении	19,20 $\pm$ 0,14	18,40 $\pm$ 0,14*

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

При изучении поведенческой активности (тест «открытое поле») у крысят в 20-дневном возрасте (табл. 3) относительно контроля статистически значимо повышалось количество горизонтальных передвижений (горизонтальная двигательная активность)

на 9,3 % ($p < 0,05$), заглядываний в напольные отверстия (исследовательская активность) в 2,2 раза ($p < 0,05$) и актов груминга (54,5%, $p < 0,05$), тогда как вертикальная двигательная активность и акты дефекаций у этих животных достоверно не различались.

Таблица 3

Поведенческая активность (тест «открытое поле») потомства от крыс самок, получавших с 6-го дня беременности и до родов адепрофен в дозе 150 мг/кг ($M \pm m$)

Исследуемые параметры (количество актов на 1 особь)	Варианты опытов (дозы веществ)	
	контрольная группа вода дистиллированная	опытная группа адепрофен
20-дневный возраст		
Горизонтальная двигательная активность	24,6 $\pm$ 0,7	26,90 $\pm$ 0,84*
Вертикальная двигательная активность	4,2 $\pm$ 0,31	4,40 $\pm$ 0,35
Исследовательская активность	1,50 $\pm$ 0,18	3,3 $\pm$ 0,4*
Акты груминга	1,1 $\pm$ 0,1	1,70 $\pm$ 0,18*
Акты дефекаций	0,80 $\pm$ 0,12	0,6 $\pm$ 0,1
45-дневный возраст		
Горизонтальная двигательная активность	36,00 $\pm$ 0,61	35,50 $\pm$ 0,58
Вертикальная двигательная активность	13,30 $\pm$ 0,51	12,80 $\pm$ 0,54
Исследовательская активность	4,50 $\pm$ 0,23	5,10 $\pm$ 0,21
Акты груминга	1,40 $\pm$ 0,32	1,30 $\pm$ 0,24
Акты дефекаций	0,70 $\pm$ 0,32	0,7 $\pm$ 0,2

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

В исследованиях, проведенных у этого потомства крысят в 45-дневном возрасте (табл. 3) относительно контроля, статистически значимых различий не обнаружено. По результатам изучения мнестических реакций (тест «УРПИ») у 2-месячных крысят не обнаружено значимых изменений относительно контрольной

группы по воспроизведению памятного следа (табл. 4). При этом латентный период и время нахождения в темной камере крысят в опытной группе практически не различалось с контрольной группой, тогда как количество заходов в темную (опасную) камеру у них недостоверно снижалось.

Таблица 4

Обучаемость и память (тест «УРПИ») 60-дневного потомства от крыс самок, получавших с 6-го дня беременности и до родов адепрофен в дозе 150 мг/кг ($M \pm m$)

Исследуемые параметры	Контрольная группа вода дистиллированная	Опытная группа адепрофен
Латентный период, с	166,10 $\pm$ 3,85	163,70 $\pm$ 5,76
Время нахождения в камере, с	13,90 $\pm$ 3,85	16,30 $\pm$ 5,76
Количество заходов	0,60 $\pm$ 0,12	0,40 $\pm$ 0,11

Таким образом, из проведенных исследований можно сделать заключение об отсутствии отдаленного влияния субстанции адепрофена (новый аналог пуринового нуклеозида аденозина) в дозе 150 мг/кг на процессы постнатального развития потомства крысят, при условии ее введения крысам самкам в период беременности. Отмечено, что физическое развитие потомства крысят не нарушалось и было полностью сформировано к 2-месячному возрасту. Прирост массы тела был положительным во все периоды измерений, а физическое развитие потомств крысят практически не различалось с контрольными данными и не выходило за рамки физиологической нормы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Субстанция адепрофена (новый ароматический аналог пуринового нуклеозида аденозина) в дозе 150 мг/кг при введении беременным крысам самкам не оказывает отдаленного влияния на развитие потомства в постнатальном периоде.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ковалев Д.Г., Николаенко Н.А. Исследование антидепрессивной активности нового соединения ряда 9-(2-арилоксиэтил)аденина ВМА 99-82 // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2007. № 4. С. 50–52.
2. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Химико-фармацевтический журнал. 2003. Т. 37. № 3. С. 32–34.
3. Токсические свойства нового производного нуклеозида при однократном интрагастральном введении половозрелым животным / Л.И. Бугаева, А.А. Озеров, Т.Д. Денисова [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2013. № 4. С. 101–103.

4. Ковалев Д.Г., Бугаева Л.И., Озеров А.А. Изучение уровня безвредности нового производного аденина, проявляющего антидепрессивную активность при однократном введении в максимальных дозах // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2010. № 4. С. 15–17.

5. Денисова Т.Д., Мазанова Ю.А., Бугаева Л.И., Озеров А.А. Эмбрио-фетотоксическое действие у нового пуринового нуклеозида аденозина с антидепрессивной активностью // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2016. № 3. С. 70–73.

6. Озеров А.А., Ковалев Д.Г., Носков Е.Н., Абу Салха Ахмадж. Синтез и психофармакологическая активность новых производных 5-(N-пиперидино)- и 5-(N-морфолино) урацила с ароматическим ядром в боковой цепи // Вестник Волгоградской медицинской академии. 2000. № 6. С. 60–62.

7. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М., 2012. С. 80–92.

8. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., 1991.

9. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Онищенко Ф.А. Проблемы нормы в токсикологии. М., 1991.

REFERENCES

1. Kovalev D.G., Nikolaenko N.A. Study of antidepressant activity of the new compound of 9-(2-aryloxyethyl) adenin ВМА 99-82. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2007;4:50–52. (In Russ.).
2. Berezovsky I.V. Classification of chemicals by acute toxicity parameters in parenteral methods of administration. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Chemical-pharmaceutical journal*. 2003;37(3):32–34. (In Russ.).
3. Bugayeva L.A., Ozerov A.A., Denisova T.J., Morozova Yu.A., Lebedeva S.A. Toxic properties of the new nucleoside derivative in a single intragastral administration to sexually mature animals. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2013;4:101–103. (In Russ.).

4. Kovalev D.G., Bougayeva L.I., Ozerov A.A. Study of the level of harmless new adenine derivative showing antidepressant activity at single administration in maximum doses. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2010;4:15–17. (In Russ.).

5. Denisova T.J., Mazanova Yu.A., Bougayeva L.I., Ozerov A.A. Embryofetotoxic action in the new purine nucleoside adenosine with antidepressant activity. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2016; 3:70–73. (In Russ.).

6. Ozerov A.A., Kovalev D.G., Nosco E.N., Abu Salha Ahmaj. Synthesis and psychopharmacological activity of new derivatives 5- (N-piperidino) and 5- (N- morpholino) uracil with aromatic nucleus in side chain. *Vestnik Volgogradskoy meditsinskoy akademii = Journal of Volgograd Medical Academy*. 2000; 6:60–62. (In Russ.).

7. Mironov A.N. Guidelines for preclinical drug research. Part 1. Moscow; 2012. (In Russ.).

8. Buresh I., Bureshova O., Houston D.P. Techniques and the main experiments on studying of a brain and behavior. Moscow; 1991. 210 p. (In Russ.).

9. Trakhtenberg I.M., Owl R.E., Sheftel V.O., Onikenko F.A. Norm problems in toxicology. Moscow: Medicina Publ.; 1991. (In Russ.).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Любовь Ивановна Бугаева – доктор биологических наук, заведующий лабораторией токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, li_bugaeva@mail.ru

Татьяна Дмитриевна Денисова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, TanyaDDenisova@mail.ru

Юлия Александровна Мазанова – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, julja-10@list.ru

Наталья Сергеевна Мелихова – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, bugnatasha7@mail.ru

Александр Александрович Озеров – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, dds.ozerov@gmail.com

Статья поступила в редакцию 24.09.2021; одобрена после рецензирования 27.10.2021; принята к публикации 10.11.2021.

The authors declare no conflicts of interests.

Information about the authors

Lyubov I. Bugaeva – Doctor of Biological Sciences, Head of the Toxicology Laboratory, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, li_bugaeva@mail.ru

Tatiana D. Denisova – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Toxicology, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, TanyaDDenisova@mail.ru

Yulia A. Mazanova – Junior Researcher at the Laboratory of Toxicology, Research Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, julja-10@list.ru

Natalia S. Melikhova – Junior Researcher at the Toxicology Laboratory, Research Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, bugnatasha7@mail.ru

Alexander A. Ozerov – Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, dds.ozerov@gmail.com

The article was submitted 24.09.2021; approved after reviewing 27.10.2021; accepted for publication 10.11.2021.