

ЭМБРИО-ФЕТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ У НОВОГО ПУРИНОВОГО НУКЛЕОЗИДА АДЕНОЗИНА С АНТИДЕПРЕССИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

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

*Волгоградский государственный медицинский университет,
НИИ фармакологии*

В экспериментах на беременных крысах-самках установлено отсутствие повреждающего влияния вещества ВМА 99-82 при внутрижелудочном введении в дозах 10 мг/кг и 150 мг/кг на процессы эмбрио-, органо- и фетогенеза. Отмечено также положительное влияние вещества ВМА 99-82 на общее состояние беременных крыс-самок и на качество антенатального развития плодов.

Ключевые слова: беременные крысы-самки, органогенез, фетогенез, производное нуклеозида, психотропные средства.

EMBRYO-FETOTOXIC ACTION OF NEW PURINE NUCLEOSIDE ADENOSINE WITH ANTIDEPRESSANT ACTIVITY

T. D. Denisova, J. A. Mazanova, L. I. Bugaeva, A. A. Ozerov

*Volgograd State Medical University,
Research Institute of Pharmacology*

In experiments on pregnant female rats, we found that the agent VMA 99-82 had no damaging effect on embryo-, organo- and fetogenesis when it was administered intragastrically in doses of 10 mg/kg and 150 mg/kg. We also observed the positive influence of the agent VMA 99-82 on the general condition of pregnant female rats and on the quality of antenatal development of their fetuses.

Key words: pregnant female rats, organogenesis, fetogenesis, nucleoside derivative, psychotropic drugs.

Новое соединение с антидепрессивной активностью является ароматическим аналогом пуринового нуклеозида аденозина, под лабораторным шифром ВМА 99-82 [6]. В экспериментальных исследованиях у данного соединения, наряду с антидепрессивной активностью [5], выявлено анксиолитическое и противовирусное действие [4–6]. По результатам токсикологических исследований было показано, что вещество ВМА 99-82 относится к 3-му классу умеренно токсичных соединений (ГОСТ 12.1.007.76), ЛД₅₀ которого при внутрижелудочном введении крысам составляет 4811,7 мг/кг [1, 2, 3, 8]. В настоящее время решается вопрос о дальнейшем более углубленном изучении вещества ВМА 99-82. По данным литературы известно, что использование препаратов с антидепрессивной (трициклические антидепрессанты, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и ИМАО) и анксиолитической активностью (бензодиазепины) в течение беременности не повышает риск пороков развития и уродств [10].

Учитывая важность изучения на доклиническом уровне процессов репродукции и эмбриогенеза, сочли целесообразным исследовать данные аспекты действия у нового аналога пуринового нуклеозида аденозина под лабораторным шифром ВМА-99-82.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение влияния вещества ВМА 99-82 на процессы эмбрио- и фетогенеза, регистрируемые в антенатальный период развития плодов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 140 беспородных виргинных белых крысах самках 4-мес. возраста, доставленных из специализированного питомника Государственного унитарного предприятия научно-исследовательского института гигиены труда и профпатологии МЗ РФ г. Волгограда (НИИ ГТиП, г. Волгоград) и прошедших 2-недельный карантин в виварии НИИ фармакологии. Содержание животных и проведение на них манипуляций соответствовало нормативным требованиям, изложенным в «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Часть первая). — М.: Гриф и К, 2012 [7].

При проведении экспериментов забеременевших крыс-самок, накануне ссаженных с интактными крысами-самцами, делили на 4 опытные и 3 контрольные группы. Опытным группам крыс-самок вещество ВМА 99-82 вводили внутрижелудочно в различные периоды беременности. В период органогенеза (с 6-го по 16-е дни беременности) вводили вещество ВМА 99-82 в дозах 10 мг/кг (составляет 1/480 от ЛД₅₀ и соответствует терапевтически эффективной дозе — 1-я опытная группа) и 150 мг/кг (составляет 1/32 от ЛД₅₀ и превышает терапевтически эффективную дозу в 15 раз — 2-я опытная группа). В период имплантации и плацентации (с 1-го по 6-й день беременности) и фетогенеза (с 16-го по 19-е дни беременности) вводили вещество ВМА 99-82 в дозе 150 мг/кг (соответственно 3-я и 4-я опытные группы). Контрольным группам крыс самок в эти же периоды беременности вводили внутрижелудочно дистиллированную

воду в объеме 20 мл/кг. Данный объем дистиллированной воды использовался при растворении исследуемого вещества.

В период наблюдений у беременных крыс-самок отмечали общее состояние, поведение, массу тела (г). На 20-й день беременности крыс самок подвергали эвтаназии (метод дислокации шейных позвонков), [7]. На вскрытии у них выделяли яичники и рога матки. В яичниках подсчитывали число желтых тел беременности, а в рогах матки — количество живых, мертвых и резорбированных плодов. На основании полученных данных вычисляли пред- и постимплантационную гибель плодов [7]. Выделенные из рогов матки плоды тщательно осматривали на предмет обнаружения внешне видимых аномалий и уродств развития, измеряли их краниокаудальные размеры (см) и массу тела (г).

Результаты экспериментов подвергали статистической обработке с использованием пакета программ Microsoft Excel и Statistika 6.0. О достоверности изменений судили с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам наблюдений общего состояния беременных крыс в опытных и контрольных группах существенных различий не выявлено. При этом шерстный покров у них был гладкий и лоснящийся, слизистые оболочки — прозрачными и видимые кожные покровы — чистыми. Вместе с тем, в период введения вещества ВМА 99-82 в поведении у беременных крыс-самок отмечались тенденции седации, которые более ярко прослежи-

вались у 2-й опытной группы беременных крыс-самок. При этом реакции на внешние раздражители (болевые, слуховые, тактильные) у 1-й и 2-й опытных групп беременных крыс-самок не отличались от данных контроля.

По результатам наблюдений за динамикой прироста массы тела у беременных крыс-самок опытных групп достоверных различий относительно контрольных групп не обнаружено. Вместе с тем, обращает на себя внимание тенденция дозозависимого снижения прироста массы тела у крыс-самок, получавших вещество ВМА 99-82 в период органогенеза (табл. 1).

Снижение прироста массы тела у этих животных прослеживалось после отмены введения вещества (с 16-го по 20-й дни беременности). За этот период прирост массы тела у крыс-самок в контроле составил 35 г, а в 1-й и 2-й опытных группах — 27 г и 18,4 г (соответственно). Можно предположить, что снижение прироста массы тела у беременных крыс после отмены введения вещества ВМА 99-82 обусловлено наличием эффектов привыкания к препарату. Данное предположение в какой-то степени согласуется с более ранними исследованиями [4—6], которые установили в основе механизма активизирующее влияние на серотонин-, норадреналин- и дофаминергическую системы мозга.

При этом, по результатам изучения прироста массы тела крыс-самок, получавших вещество ВМА 99-82 в периоды эмбрио- и фетогенеза, подобного эффекта не было обнаружено.

Результаты вскрытия крыс-самок на 20-й день беременности, получавших вещество ВМА 99-82 в период органогенеза, представлены в табл. 2.

Таблица 1

Влияние вещества ВМА 99-82 (внутрижелудочно, 6—16 дни беременности) на прирост массы тела (г) беременных крыс ($M \pm m$)

Периоды измерений, дни	Варианты опытов, дозы веществ		
	контрольная группа вода дистиллированная (20 мл/кг)	опытная группа 1 вещество ВМА 99-82 (10 мг/кг)	опытная группа 2 вещество ВМА 99-82 (150 мг/кг)
Исход	210,20 ± 2,03	209,70 ± 1,19	208,8 ± 1,2
6	227,20 ± 2,69	224,90 ± 2,16	225,00 ± 1,86
16	260,40 ± 3,01	260,90 ± 2,75	261,00 ± 2,77
20	295,00 ± 4,03	287,4 ± 4,8	279,40 ± 3,32*

**p* < 0,01 результаты достоверны относительно контрольной группы 1.

Таблица 2

Влияние вещества ВМА 99-82 (внутрижелудочно, 6—16 дни беременности) на процессы эмбрионального развития плодов ($M \pm m$)

Исследуемые параметры (на 1 самку)	Варианты опытов (дозы веществ)		
	контрольная группа вода дистиллированная (20 мл/кг)	опытная группа 1 вещество ВМА 99-82 (10 мг/кг)	опытная группа 2 вещество ВМА 99-82 (150 мг/кг)
Желтые тела (количество)	12,60 ± 0,22	11,2 ± 0,4*	12,80 ± 0,52
Места имплантаций (количество)	10,90 ± 0,53	10,20 ± 0,36	10,20 ± 0,73
Резорбции (количество)	0,30 ± 0,13	0,20 ± 0,08	0,50 ± 0,18
Доимплантационная гибель (%)	12,90 ± 4,19	8,60 ± 1,93	20,50 ± 4,81
Послеимплантационная гибель (%)	2,50 ± 1,04	1,40 ± 0,75	5,90 ± 2,24
Количество плодов	10,60 ± 0,52	10,10 ± 0,35	9,70 ± 0,76
Размеры (см)	3,10 ± 0,04	3,10 ± 0,02	3,10 ± 0,03
Масса (г)	2,30 ± 0,05	2,40 ± 0,06	2,30 ± 0,06

**p* < 0,01 результаты достоверны относительно контрольной группы 1.

Из представленных в таблице данных видно, что относительно контрольных групп у крыс-самок опытных групп произошло снижение количества желтых тел беременности в 1-й опытной группе на 11,1 % ($p < 0,01$), тогда как у крыс самок 2-й опытной группы различий не обнаружено. При этом количество мест имплантаций в рогах матки у данных опытных групп животных существенно не различалось с таковыми у контрольной группы. Однако в рогах матки у животных 2-й опытной группы отмечено повышение количества резорбированных плодов (66,7 %, $p > 0,05$), тогда как у 1-й опытной группы данные практически не отличались относительно контрольных величин. В этой связи у крыс самок 1-й опытной группы общая эмбриональная гибель была ниже контрольных значений, а у крыс самок 2-й опытной группы данные показатели были, наоборот, выше: доимплантационной гибели на 58,9 % ($p > 0,05$) и постимплантационной гибели плодов — в 2,4 раза ($p > 0,05$).

При анализе вещества ВМА 99-82, вводимого беременным крысам-самкам с 1-го по 6-й и с 16-го по 19-е дни беременности, не отмечено каких-либо повреждающих эффектов. Вместе с тем у беременных крыс самок 3-й опытной группы отмечена недостоверная тен-

денция снижения мест имплантаций, резорбций и количества плодов относительно контроля (табл. 3).

В связи с этим у самок данной опытной группы доимплантационная гибель плодов была достоверно повышена на 90,5 % ($p < 0,05$), тогда как постимплантационная гибель плодов практически не отличалась от контрольных значений. У беременных крыс самок 4-й опытной группы число желтых тел беременности, мест имплантаций и резорбций, а также и плодовитость были на уровне контрольных значений (табл. 4).

В этой связи у самок данной опытной группы доимплантационная гибель плодов не изменялась, а постимплантационная гибель плодов недостоверно снижалась на 59,4 % ($p > 0,05$).

При визуальном обследовании плодов от самок опытных и контрольных групп не выявлено внешне видимых аномалий развития и уродств, а также не зарегистрировано и погибших плодов. Вместе с тем, при осмотре внешнего состояния плодов от самок 1-й и 2-й опытных групп различий с контролем не обнаружено, но было отмечено дозозависимое снижение количества плодов в рогах матки и отсутствие изменений по краниокаудальным размерам и по массе тела. Внешнее состояние плодов от самок 3-й опытной группы

Таблица 3

Влияние вещества ВМА 99-82 (внутрижелудочно, 1—6 дни беременности) на процессы эмбрионального развития плодов ($M \pm m$)

Исследуемые параметры (на 1 самку)	Варианты опытов (дозы веществ)	
	контрольная группа вода дистиллированная (20 мл/кг)	опытная группа 3 вещество ВМА 99-82 (150 мг/кг)
Желтые тела (количество)	11,7 ± 0,7	12,00 ± 0,58
Места имплантаций (количество)	10,4 ± 0,6	9,60 ± 0,54
Резорбции (количество)	0,30 ± 0,14	0,20 ± 0,09
Доимплантационная гибель (%)	10,60 ± 3,07	20,20 ± 2,34*
Послеимплантационная гибель (%)	1,90 ± 1,05	2,10 ± 1,05
Количество плодов	10,10 ± 0,55	9,40 ± 0,54
Размеры (см)	3,10 ± 0,05	3,20 ± 0,04*
Масса (г)	2,10 ± 0,07	2,30 ± 0,05**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ результаты достоверны относительно контрольной группы 2.

Таблица 4

Влияние вещества ВМА 99-82 (внутрижелудочно, 16—19 дни беременности) на процессы эмбрионального развития плодов ($M \pm m$)

Исследуемые параметры (на 1 самку)	Варианты опытов (дозы веществ)	
	контрольная группа вода дистиллированная (20 мл/кг)	опытная группа 4 вещество ВМА 99-82 (150 мг/кг)
Желтые тела (количество)	10,6 ± 0,6	10,40 ± 0,64
Места имплантаций (количество)	9,50 ± 0,73	9,30 ± 0,55
Резорбции (количество)	0,20 ± 0,12	0,20 ± 0,08
Доимплантационная гибель (в %)	12,40 ± 3,76	10,00 ± 2,92
Послеимплантационная гибель (в %)	2,40 ± 1,45	1,50 ± 0,81
Количество плодов	9,30 ± 0,72	9,10 ± 0,54
Размеры (см)	3,20 ± 0,03	3,20 ± 0,02
Масса (г)	2,30 ± 0,03	2,30 ± 0,03

также не различалось с контролем, но было отмечено недостоверное снижение количества плодов и достоверное повышение массы тела (12,1 %, $p < 0,01$) и их краниокаудальных размеров (4,9 %, $p < 0,05$). У плодов от самок 4-й опытной группы внешнее состояние, плодовитость, а также краниокаудальные размеры и масса тела не различались с контрольными величинами.

Таким образом, из результатов проведенных исследований можно заключить, что ароматический аналог пуринового нуклеозида аденозина, вещества под лабораторным шифром ВМА 99-82, при внутрижелудочном введении беременным крысам самкам в периоды: органогенеза в дозах 10 и 150 мг/кг; имплантации и плацентации, фетогенеза в дозе 150 мг/кг не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием. При этом вещество ВМА 99-82 в различные периоды беременности не оказывает патологического влияния на общее состояние крыс самок, а также и на процессы эмбрио-, орган- и фетогенеза, регистрируемые в антенатальном периоде развития плодов крыс. Вместе с тем не отмечено отрицательного влияния вещества ВМА 99-82 на качество антенатального развития плодов, общей эмбриональной гибели, плодовитости и процессов фетогенеза. При этом у плодов под действием вещества ВМА 99-82 не отмечено уродств и внешне видимых аномалий развития.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Новый ароматический аналог пуринового нуклеозида аденозина, вещество под лабораторным шифром ВМА 99-82, не обладает эмбрио- и фетотоксическим действием, регистрируемым в антенатальном периоде развития плодов крыс.

2. Новый ароматический аналог пуринового нуклеозида аденозина при внутрижелудочном введении беременным крысам (вещество ВМА 99-82) в дозах 10 и 150 мг/кг не вызывает уродств и внешне видимых аномалий развития и не угнетает качество антенатального развития плодов крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березовская И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И. В. Березовская // Химико-фармацевтический журнал. — 2003. — Т. 37, № 3. — С. 32—34.

2. Бугаева Л. И., Озеров А. А., Денисова Т. Д., Морозова Ю. А., Лебедева С. А. Токсические свойства нового производного нуклеозида при однократном интра-

гастральном введении половозрелым животным / Л. И. Бугаева, А. А. Озеров, Т. Д. Денисова, Ю. А. Морозова, С. А. Лебедева // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2013. — № 4. — С. 101—103.

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

4. Ковалев Д. Г., Бугаева Л. И., Озеров А. А. Нейротоксикологический профиль новых производных аденина, обладающих противовирусной активностью / Д. Г. Ковалев, Л. И. Бугаева, А. А. Озеров // Саратовский научно-медицинский журнал. — 2010. — № 2. — Т. 6. — С. 253—256.

5. Ковалев Д. Г., Николаенко Н. А. Исследование антидепрессивной активности нового соединения ряда 9-(2-арилоксиэтил)аденина ВМА 99-82 / Д. Г. Ковалев, Н. А. Николаенко // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2007. — № 4. — С. 50—52.

6. Озеров А. А., Ковалев Д. Г., Носко 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 / А. А. Озеров, Д. Г. Ковалев, Е. Н. Носко, Абу Салха Ахмадж // Вестник Волгоградской медицинской академии. — 2000. — № 6. — С. 60—62.

7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общ. ред. д. м. н. А. Н. Миронова. — М., 2012. — Ч. I. — С. 80—92.

8. Саноцкий И. В., Фоменко В. Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм / И. В. Саноцкий, В. Н. Фоменко. — М.: Медицина, 1979. — 390 с.

9. Трахтенберг И. М. В кн. Проблемы нормы в токсикологии / И. М. Трахтенберг, Р. Е. Сова, В. О. Шефтель, Ф. А. Оникенко // Современные представления и методические подходы, основные параметры. — М.: Медицина, 1991. — 204 с.

10. Dora Kohen Применение психотропных препаратов во время беременности (Обзор современной психиатрии) / Dora Kohen // Advances in Psychiatric Treatment. — 2004. — Vol. 10. — P. 59—66.

Контактная информация

Денисова Татьяна Дмитриевна — к. б. н., ассистент кафедры фармакологии, НИИ фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: tanyaddenisova@mail.ru