

## ВВЕДЕНИЕ ДИМЕФОСФОНА В РАННИЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ И ОЦЕНКА ЕГО ДЕЙСТВИЯ НА ПОТОМСТВО КРЫС

И. М. Бурыкин, Г. Н. Алеева, Р. Х. Хафизьянова<sup>1</sup>

Воздействие ряда антихолинэстеразных фосфорорганических веществ во время беременности сопряжено с развитием поведенческих и морфологических нарушений потомства человека и животных. Поэтому в исследовании оценено влияние одного из представителей неантихолинэстеразных органических производных кислот фосфора — диметилового эфира 1,1-диметил-3-кетобутилфосфоновой кислоты (димефосфона) на организм и потомство беременных крыс. Димефосфон вводили с 1-го по 6-й день беременности в дозе 200 мг/кг. Плоды оценивали на 20-й день беременности. Выявлено, что димефосфон не вызывал гибели эмбрионов, при морфологическом исследовании не обнаружено специфических аномалий развития у плодов крыс. Препарат не изменял признаки половой дифференцировки плодов. Таким образом, димефосфон не обладает тератогенным эффектом при введении крысам на ранних стадиях беременности.

**Ключевые слова:** крыса, димефосфон, беременность, репродуктивная безопасность, эмбриогенез, тератогенность

### ВВЕДЕНИЕ

В литературе имеются сведения о действии антихолинэстеразных фосфорорганических соединений (ФОС) на репродуктивную функцию и развитие потомства. Вещества этого класса нарушали нормальное развитие плодов как на ранних, так и на поздних этапах эмбриогенеза [1, 4, 9, 10, 13]. В связи с отсутствием данных о репродуктивной безопасности малотоксичного неантихолинэстеразного производного ФОС — диметилового эфира 1,1-диметил-3-кетобутилфосфоновой кислоты — димефосфона, было исследовано действие этого лекарственного средства на ранние этапы эмбриогенеза.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали 20 самок беспородных белых крыс массой тела 200 – 250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при доступе пищи и воды *ad libitum*. Первым днем беременности считали обнаружение сперматозоидов во влажных мазках. Препарат вводили животным внутрибрюшинно 6-кратно, с 1-го по 6-й день беременности, в дозе 200 мг/кг. Димефосфон (субстанция) синтезирована в ИОФХ им. акад. А. Е. Арбузова КНЦ РАН ведущим научным сотрудником А. О. Визелем. Самки контрольной группы получали стерильный эквивалент дистиллированной воды в аналогичные сроки.

Крыс под легким эфирным наркозом выводили из эксперимента на 20-й день беременности. После извлечения плодов матку осматривали для подсчета мест имплантации и резорбции. Резорбции рассматривали

как “ранние” в случае визуального наблюдения остатков зародыша и изменения стенки матки и как “поздние” при выявлении остатков плаценты и плода [12]. Далее оценивали число желтых тел в яичниках, количество живых и мертвых плодов. Рассчитывали показатели эмбриональной гибели: индексы пред- и постимплантационной смертности по стандартным формулам [2, 12]. Проводили взвешивания, измерение длины всех зародышей и их плацент, затем проводили осмотр плодов с целью выявления внешних аномалий развития. Часть помета помещали в фиксатор Буэна для исследования по методу Вильсона — Дыбана. Послойные срезы плода исследовали под бинокулярной лупой. Последовательно оценивали состояние и аномалии всех внутренних органов: головного мозга и его желудочков, сердца, легких, крупных сосудов, печени, почек и других органов. Изучали вероятность появления вариаций развития, такие как расширение почечной лоханки и мочеточника как у контрольных, так и у опытных крысят. Другую часть потомства фиксировали в 96° спирте для изучения костного скелета по методу Даусона — Дыбана [2]. Последовательно оценивали правильность закладки и оссификации всех отделов скелета плода. Всего исследовано 168 плодов опытных и контрольных групп.

Результаты исследования обрабатывали с помощью *t*-критерия Стьюдента в случае нормального распределения признака и критерия Манна — Уитни в случае отличия закона распределения от нормального, с использованием пакета NCSS2000 [8].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование состояния беременных крыс не выявило наличия общетоксического действия препарата на их организм при курсовом введении в дозе 200 мг/кг. Показатели прироста массы тела, коэффи-

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. Р. С. Гараев) Казанского государственного медицинского университета, Казань, 420012, ул. Бутлерова, 49.

Таблица 1. Результаты исследования выживаемости потомства крыс на фоне введения димефосфона в дозе 200 мг/кг в ранние сроки беременности

| Показатель                 | Контроль     | Опыт         |
|----------------------------|--------------|--------------|
| Беременных крыс            | 13           | 10           |
| Крыс с живыми плодами      | 13           | 10           |
| Крыс с мертвыми плодами    | 0            | 0            |
| Крыс с полной резорбцией   | 0            | 0            |
| Желтых тел                 | 11,91 ± 0,41 | 10,33 ± 0,91 |
| Мест имплантации           | 9,25 ± 0,80  | 8,50 ± 0,34  |
| Мест ранней резорбции      | 0,50 ± 0,33  | 1,83 ± 0,79  |
| Мест поздней резорбции     | 0,50 ± 0,23  | 0,33 ± 0,21  |
| Количество плодов на помет |              |              |
| живых                      | 8,25 ± 0,98  | 6,33 ± 0,98  |
| мертвых                    | 0            | 0            |
| Гибель эмбрионов           |              |              |
| предымпантационная         | 0,22 ± 0,06  | 0,15 ± 0,06  |
| постимплантационная        | 0,12 ± 0,05  | 0,25 ± 0,10  |

циенты масс яичников и матки опытных животных не отличались от контрольных. Лекарственное средство не влияло на потребление воды и пищи животными.

По данным ряда авторов было выявлено повышение общей эмбриональной смертности под влиянием карбофоса в 3,7 раза [5]. В эпидемиологических исследованиях было зарегистрировано увеличение частоты прерывания беременности у женщин, работающих на производстве в контакте с фосфорсодержащими веществами [6]. Исследование влияния димефосфона на эмбриональную смертность плодов показало, что он не вызывает появления крыс с мертвыми плодами (табл. 1). Не было зарегистрировано наличия крыс с полной резорбцией эмбрионов. Количество желтых тел в яичниках опытных животных не различалось от контрольных. Препарат не вызывал гибель эмбрионов, о чем свидетельствует отсутствие различий по индек-

Таблица 2. Результаты морфометрического исследования плодов крыс после введения димефосфона в дозе 200 мг/кг в ранние сроки беременности

| Показатель           | Контроль     | Опыт         |
|----------------------|--------------|--------------|
| Масса плода, г       |              |              |
| самцы                | 2,81 ± 0,20  | 2,50 ± 0,11  |
| самки                | 2,71 ± 0,16  | 2,34 ± 0,11  |
| Длина плода, мм      |              |              |
| самцы                | 38,61 ± 0,77 | 37,74 ± 0,72 |
| самки                | 37,69 ± 0,71 | 36,32 ± 0,95 |
| Масса плаценты, г    |              |              |
| самцы                | 0,62 ± 0,02  | 0,66 ± 0,03  |
| самки                | 0,59 ± 0,01  | 0,64 ± 0,05  |
| Диаметр плаценты, мм |              |              |
| самцы                | 14,38 ± 0,27 | 14,38 ± 0,31 |
| самки                | 14,08 ± 0,28 | 14,20 ± 0,38 |

сам пред- и постимплантационной смертности. Среднее количество плодов на помет в опытной и контрольной группах значимо не различалось (см. табл. 1).

В ряде исследований было также выявлено, что ФОС нарушает рост и развитие плодов при действии доз, не вызывающих интоксикации у беременных крыс [1]. Димефосфон не влиял на длину и массу плодов крыс при введении его на ранней стадии беременности (табл. 2). В опытной группе диаметр и масса плаценты не отличались от контрольной, что указывает на отсутствие у димефосфона отрицательного влияния на рост и развитие потомства крыс.

В последнее время для ряда химических соединений отмечена способность их к индукции аномалий и задержке созревания половых желез при отсутствии других нарушений развития. Такой эффект обнаружен у половых гормонов [11], ряда бифенолов [12]. Наиболее достоверными критериями в тератологических исследованиях, позволяющими выявлять наличие гонадотропных свойств лекарственных препаратов, признаны оценка аногенитальной дистанции [12] и полового индекса [2]. В наших исследованиях не наблюдалось достоверных различий этих показателей у опытных и контрольных крыс, что позволяет констатировать отсутствие у димефосфона способности влиять на процессы половой дифференцировки (табл. 3).

Мнения ряда авторов противоречивы относительно возможности появления врожденных аномалий развития у плодов при введении химических веществ в предымпантационный период. Так зародыш не имеет плаценты и питается, в основном, за счет запасов питательных веществ в яйцеклетке, поэтому он достаточно устойчив к действию тератогенов [7]. Однако ряд мутагенов способны реализовывать свое действие на эмбриогенез при введении на ранних стадиях беременности [14]. Мутагенные свойства присущи отдельным ФОС [1], что требует изучения безопасности этих соединений при введении в ранние сроки беременности. Димефосфон при курсовом введении не вызывал специфических врожденных аномалий развития внутренних органов: головного мозга, сердца, легких, печени. При внешнем осмотре не отмечалось внешних аномалий лицевого отдела и конечностей. Частота вариаций развития внутренних органов, таких как расширение почечных лоханок и мочеточников у контро-

Таблица 3. Половой индекс и аногенитальная дистанция эмбрионов крыс при введении димефосфона в дозе 200 мг/кг на ранних сроках беременности

| Показатель                    | Контроль     | Опыт         |
|-------------------------------|--------------|--------------|
| Индекс самец/самка            | 1,14         | 1,23         |
| Аногенитальная дистанция, ед. |              |              |
| самец                         | 31,09 ± 1,02 | 32,15 ± 0,80 |
| самка                         | 16,93 ± 0,44 | 16,61 ± 0,79 |

льной и опытной групп плодов достоверно не различалась и соответствовала показателям, описанным другими авторами [11, 12]. При исследовании костной системы по методу Даусона — Дыбана в обеих экспериментальных группах отмечалось нормальная оссификация и отсутствие аномалий развития позвонков, ребер, грудины, тазовых костей и других отделов скелета.

## ВЫВОД

Димефосфон не оказывает отрицательного действия на развитие потомства в отличие от описанных в литературе органических производных кислот фосфора антихолинэстеразного действия.

## ЛИТЕРАТУРА

1. С. Н. Голиков, В. И. Розенгарт, *Холинэстераза и антихолинэстеразные вещества*, Медицина, Москва (1964).
2. А. П. Дыбан, *Методы биологии развития*, Медицина, Москва (1974).
3. Н. Ибрагимов, *Гиг. и сан.*, № 10, 90 – 91 (1988).
4. Ю. С. Каган, *Токсикология фосфорорганических пестицидов и гигиена труда при их применении*, Медгиз, Москва (1963).
5. Е. П. Коршунова, *Гиг. и сан.*, № 10, 13 – 15 (1988).
6. Н. Н. Литвинов, В. И. Казачков, Л. Ф. Астахова, З. М. Гасимова, *Гиг. и сан.*, № 11, 80 – 82 (1990).
7. Л. В. Серова, *Усп. физиол. наук*, **30**(3), 62 – 72 (1999).
8. S. C. Gad, *Statistics and experimental design for toxicologists*, Third edition, CRC Press, Boca Raton (1999).
9. B. F. Hales, *Biochem. Pharmacol.*, **32**(12), 3791 – 3795 (1983).
10. W. Harrouk, B. Robaire, and B. F. Hales, *Biol. Reprod.*, **63**(91), 74 – 81 (2000).
11. A. Hossaini, M. Dalgaard, A. Marie, et al., *Reproductive Toxicology*, **15**(95), 537 – 543 (2001).
12. J. C. Kim, H. C. Shin, S. W. Cha, et al., *Life Sciences*, **69**, 2611 – 2625 (2001).
13. R. Padmanabhan, *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.*, **9**(3), 239 – 255 (1989).
14. J. E. Polifka and K. L. Jones, *Immunology and Allergy Clinics of North America*, **20**(11), 81 – 92 (2000).

Поступила 26.05.03

## DIMEPHOSPHON INTRODUCED IN THE EARLY STAGE OF PREGNANCY DOES NOT AFFECT EMBRYOGENESIS IN RATS

I. M. Burykin, G. N. Aleeva, and R. Kh. Khafiz'yanova

Pharmacology Department, State Medical University, ul. Butlerova 49, Kazan, Tatarstan, 420012 Russia

Some anticholinesterase organophosphorus compounds introduced into the organism in the course of pregnancy lead to the development of behavioral and morphological disturbances in both human and animal kids. In this context, the potential teratogenic effect of dimephosphon (1,1-dimethyl-3-ketobutylphosphonic acid dimethyl ester), representing nonanticholinesterase derivatives of organophosphoric acids, was evaluated in rats. The drug was introduced in a dose of 200 mg/kg over the period from 1st to 6th day of pregnancy and the results were assessed on the 20th day. It was found that dimephosphon did not lead to the loss of embryos. The results of morphological investigation showed neither anomalies in the development of embryo nor evidence of changes in the sex differentiation. Thus, dimephosphon exhibited no teratogenicity upon introduction in the early stage of pregnancy in rats.