

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ ГИМАНТАНА НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ КРЫС

А. Д. Дурнев, Н. М. Смольникова, Е. П. Немова, Е. А. Вальдман,
Н. И. Авдюнина, Б. М. Пятин, С. Б. Серединин¹

В экспериментах на крысах установлено, что гимантан при внутрижелудочном введении крысам во время беременности в дозах 10, 30, 50 и 100 мг/кг обладает дозозависимым эмбриотоксическим и тератогенным действием. На основании анализа собственных и литературных данных сделано предположение, что эмбриотоксичность гимантана и некоторых других производных адамантана может быть связана с их общетоксическим действием на организм беременных самок.

Ключевые слова: гимантан, производные адамантана, эмбриотоксичность, крысы

ВВЕДЕНИЕ

Изучение репродуктивной токсичности является обязательной частью доклинических экспериментальных исследований безопасности новых лекарственных средств [1].

В Институте фармакологии РАМН был синтезирован гимантан – производное адамантана (гидрохлорид N-2-адамантил-гексаметиленмина). По предварительным результатам доклинического изучения, свидетельствующего о низкой общей токсичности гимантана, препарат является перспективным противопаркинсоническим средством [2, 8, 9].

Литературные данные о репродуктивной токсичности адамантанов весьма разноречивы. Имеются сообщения о наличии эмбриотоксических свойств у мидантана, адапромина и ремантадина. По этим данным, препараты противопоказаны для применения во время беременности [4, 11]. Вместе с тем некоторые представители этого ряда не обладают репродуктивной токсичностью. Так, бромантан в дозе, значительно превышающей терапевтическую, не увеличивает показатели спонтанной эмбриональной гибели, не обладает тератогенным действием. Кроме того, препарат оказывает стимулирующее действие на гонадотропную функцию самок и самцов крыс, активизирует половое поведение, фолликулогенез и сперматогенез [1, 3, 7, 10].

В настоящей работе представлены материалы по изучению эмбриотоксического и тератогенного действия гимантана.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты по изучению влияния гимантана на эмбриональное развитие (регистрация отклонений перед родами) проводили на 37 беременных белых беспородных крысах с исходной массой 210 – 250 г. Первым

днем беременности считали день обнаружения сперматозоидов в вагинальных мазках крыс, подсаженных накануне к самцам в соотношении 2:1. Препарат вводили один раз в сутки внутрижелудочно с помощью желудочного зонда с 1-го по 19-й день беременности в дозах 10, 30, 50 и 100 мг/кг. Контрольным животным вводили внутрижелудочно растворитель — дистиллированную воду.

Во время опыта следили за общим состоянием и поведением беременных крыс. Животных взвешивали на 1, 7, 14 и 20-й дни беременности. Животных забивали на 20-й день беременности. Исследовали репродуктивные органы самок: в яичниках подсчитывали число желтых тел, в матке — число мест имплантаций, живых и мертвых плодов. На основании полученных данных вычисляли показатели пред- и постимплантационной гибели. Плоды взвешивали, измеряли краниокаудальный размер. Определяли пол плодов и осматривали их на предмет обнаружения видимых глазом аномалий развития. Затем половину плодов помещали для фиксации в раствор Буэна, после чего на серийных срезах через эмбрионы изучали состояние внутренних органов (метод Вильсона в модификации А. П. Дыбана). Другую часть плодов фиксировали в этиловом спирте и окрашивали по методу Доусона для выявления дефектов скелета. Подсчитывали число точек окостенения в различных костях скелета (череп, конечности, ребра, грудина, кости таза, позвоночник). Цифровой материал подвергался статистической обработке с использованием методов Стьюдента, Вилкоксона – Манна – Уитни и критерия χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено, что подопытные крысы, получавшие гимантан в дозе 100 мг/кг, прибавляли в массе меньше контрольных, к концу беременности прирост составлял $10,8 \pm 6,6$ г; в дозе 50 мг/кг — $39,7 \pm 3,2$ г; в дозе

¹ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

Таблица 1. Влияние гимантана на эмбриональное развитие крыс

Группа	Число желтых тел на 1 самку	Число мест имплантаций на 1 самку	Предимплантационная гибель, %	Число живых плодов на 1 самку	Постимплантационная гибель, %	Средняя масса плодов, мг	Средний размер, см
Контроль	10,8 ± 1,3	10,0 ± 1,1	7,4	9,4 ± 0,9	6,0	2385 ± 141	3,1 ± 0,09
Гимантан, 10 мг/кг	14,1 ± 0,4	11,6 ± 0,9	17,7*	10,9 ± 1,0	6,0	2538 ± 152	3,0 ± 0,04
Гимантан, 30 мг/кг	12,4 ± 1,2	8,6 ± 2,0	30,3*	7,8 ± 1,9	8,7	2936 ± 124*	3,0 ± 0,04
Гимантан, 50 мг/кг	10,7 ± 1,1	8,1 ± 1,7	24,0*	7,4 ± 1,7	8,8	2730 ± 207	3,1 ± 0,06

Примечание. Здесь и в табл. 3: * — различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$.

Таблица 2. Аномалии развития внутренних органов

Группа	Число плодов с аномалиями развития									
	Кровоизлияния во внутренние органы		Увеличенное кровенаполнение сосудов мозга		Гидроцефалия		Кровоизлияния в глазницы		Гидронефроз	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Контроль (23)	2	8,7	—	—	—	—	—	—	—	—
Гимантан, 10 мг/кг (56)	12	21,4	7	12,5	1	1,8	—	—	1	1,8
Гимантан, 30 мг/кг (32)	5	15,6	2	6,3	3	9,4	—	—	1	3,1
Гимантан, 50 мг/кг (12)	2	16,7	—	—	—	—	3	25	1	8,3

Примечание. В скобках — число плодов.

30 мг/кг — 49,4 ± 3,4 г. Прирост массы подопытных животных, получавших препарат в дозе 10 мг/кг, превышал контрольные значения с 7-го по 14-й день беременности, а к концу беременности составлял 81,5 ± 2,7 г, то есть практически не отличался от контроля (78,5 ± 3,8 г).

Отмечена гибель беременных самок на 11-й день введения гимантана в дозе 100 мг/кг — пала одна из 7 крыс, в дозе 50 мг/кг — одна из 11 крыс. Препарат в дозе 30 и 10 мг/кг гибели животных не вызывал, что наблюдалось и в контрольной группе.

При изучении репродуктивных органов самок не было обнаружено признаков беременности у всех самок, получавших гимантан в дозе 100 мг/кг; у трех из 10 — в дозе 50 мг/кг; у одной из 9 — в дозе 30 мг/кг. Матки были чистыми без следов мест имплантаций, хотя в вагинальных мазках у всех этих крыс на следующий день после ссаживания были сперматозоиды. Контрольные крысы, кроме одной из 6, и все подопытные животные, получавшие препарат в дозе 10 мг/кг, были беременными.

Результаты изучения эмбрионального материала свидетельствуют о том, что гимантан вызывает повышение предимплантационной гибели до 24 % (50 мг/кг), 30,3 % (30 мг/кг) и 17,7 % (10 мг/кг); в контроле — 7,4 %. Величина постимплантационной гибели во всех подопытных группах была близка к контрольному показателю. Средняя масса плодов превышала массу плодов контрольной группы, но разница была статистически значимой лишь в одном случае — при введении гимантана в дозе 30 мг/кг (табл. 1).

При макроскопическом осмотре 225 плодов обнаружены плоды с аномалиями развития — они были отчетливыми и по форме напоминали шары. Такие плоды встречались лишь у подопытных животных: 10 плодов из 52 при введении гимантана в дозе 50 мг/кг; 3 плода из 64 при введении в дозе 30 мг/кг и 1 плод из 109 — при введении в дозе 10 мг/кг.

Кроме того, при воздействии гимантана в дозе 50 мг/кг было увеличено число плодов, имеющих точечные кровоизлияния (11,5 % вместо 6,4 % в контроле) и гематомы (19,2 % вместо 2,1 % в контроле).

В табл. 2 представлены результаты изучения внутренних органов на срезах через эмбрионы. Из данных табл. 2 видно, что у самок подопытных групп было большее число плодов, имеющих кровоизлияния во внутренние органы, чем в контроле (чаще всего в ткань печени). Кроме того, у некоторых плодов наблюдались аномалии, не встречающиеся в контрольной группе — увеличение кровенаполнения головного мозга и гидроцефалия после введения беременным крысам гимантана в дозах 10 и 30 мг/кг; кровоизлияния в глазницы после введения препарата в дозе 50 мг/кг и у единичных плодов всех групп отмечен гидронефроз. Однако следует заметить, что гидронефроз встречается с такой же частотой в контроле.

При изучении костей скелета 122 плодов не было обнаружено грубых дефектов. Однако у плодов подопытных самок, получавших во время беременности гимантан, отмечено замедление оксификации, что выразилось в уменьшении числа точек окостенения пястных, плюсных и грудины (табл. 3). При этом точки окостенения пястных и плюсных полностью отсутство-

Таблица 3. Число точек окостенения

Группа	Пястка	Плюсна	Грудина
Контроль	2,80 ± 0,05	2,75 ± 0,01	2,40 ± 0,2
Гимантан, 10 мг/кг	1,42 ± 0,04*	1,38 ± 0,06*	0,38 ± 0,01*
Гимантан, 30 мг/кг	1,50 ± 0,09*	1,37 ± 0,10*	0,34 ± 0,01*
Гимантан, 50 мг/кг	2,00 ± 0,10*	1,30 ± 0,10*	0,71 ± 0,01*

вали у единичных плодов, а грудины — у 61, 72 и 43% плодов, подвергнутых антенатальному воздействию гимантана в дозах 10, 30 и 50 мг/кг соответственно.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что гимантан обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием. Отмечается увеличение предимплантационной эмбриональной гибели, числа плодов с кровоизлияниями и гематомами, кровоизлияниями во внутренние органы, аномалиями внутренних органов, замедлением процессов ossификации костей скелета. Обнаружены отечные плоды, напоминающие по форме шары. В большинстве случаев наблюдаемые эффекты были дозозависимыми.

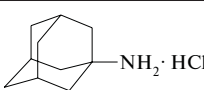
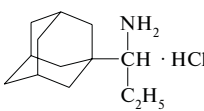
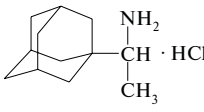
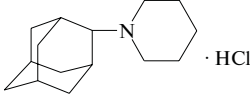
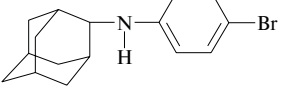
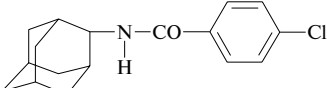
Обращает на себя внимание тот факт, что прибавка массы тела крыс, получавших гимантан, была меньше, чем у контрольных животных, а при введении препарата в дозах 100 и 50 мг/кг отмечалась гибель некоторых животных — погибло по одной крысе в группе. При введении гимантана в дозе 100 мг/кг не было обнаружено ни одной беременной крысы, в дозе 50 мг/кг

— беременными были только 70 % крыс, в дозе 30 мг/кг — 89 %, в дозе 10 мг/кг все крысы были беременными; в контроле — 84 % беременных крыс. Анализ приведенных данных и результатов макро- и микроскопического изучения плодов позволяет предположить, что одной из причин эмбриотоксического и тератогенного действия гимантана может быть общетоксическое действие препарата на организм беременных самок.

В пользу этого предположения говорят также данные сопоставления репродуктивной токсичности, общетоксического действия (LD_{50}) и структуры соединений в ряду производных адамантана (табл. 4). Так, 1-замещенные производные адамантана, аминогруппа которых непосредственно связана с алициклом (мидантан, глудантан, мемантин, кармантадин) проявляют эмбриотоксические свойства. Такое же действие обнаружено и у гимантана — гетероциклического производного 2-аминоадамантана. LD_{50} этих препаратов составляет 215 – 640 мг/кг [5, 6]. Ароматические производные 2-аминоадамантана, такие как бромантан и хлодантан, не обладают эмбриотоксичностью. Это, вероятно, может быть связано с низким общетоксическим действием, а также мощными иммуностропными свойствами этих соединений. LD_{50} бромантана составляет 5640 мг/кг, а хлодантана — 9200 мг/кг [5 – 7].

Данное предположение может иметь существенное значение для дальнейшего поиска фармакологически

Таблица 4. Данные об острой токсичности и эмбриотоксичности различных производных адамантана ((+) — наличие, (-) — отсутствие эмбриотоксичности)

Структура	Название	Фармакологическое действие	LD_{50} внутрь, мг/кг	Эмбриотоксичность
	Мидантан	Антипаркинсоническое, противовирусное	215	+
	Адапромин	Противовирусное	600	+
	Ремантадин	Противовирусное	640	+
	Гимантан	Антипаркинсоническое	540	+
	Бромантан	Психостимулирующее, иммуностропное	5640	-
	Хлодантан	Адаптогенное, иммуностимулирующее	9200	-

активных производных адамантана, лишенных эмбриотоксичности.

ВЫВОДЫ

1. Гимантан обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием и поэтому противопоказан для применения во время беременности.

2. Неблагоприятное действие гимантана на эмбриональное развитие, как и некоторых других производных адамантана, может быть обусловлено их общетоксическим действием на организм беременных крыс.

Работа выполнена при финансовой поддержке регионального фонда содействия отечественной медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, В. П. Фисенко (ред.), Москва (2000).

2. Е. А. Вальдман, Г. М. Молодавкин, *Тез. докл. "Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам"*, 36 (2001).
3. Е. А. Кузубова, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Волгоград (2001).
4. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, 12-е изд., Т. 1 – 2, Медицина, Москва (1993).
5. И. С. Морозов, Н. Г. Арцимович, Н. В. Климова и др., 1646256 ГК (1989).
6. И. С. Морозов, Н. В. Климова, Л. Н. Лаврова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **32**, 1, 3 – 5 (1998).
7. И. С. Морозов, Н. В. Климова, С. А. Сергеева и др., *Вестн. РАМН*, **3**, 28 – 32 (1999).
8. И. С. Морозов, В. И. Петров, С. А. Сергеева, *Фармакология адамантанов*, Волгоград (2001).
9. Е. С. Петренко, Е. А. Вальдман, А. П. Родионов и др., *Тез. докл. "Человек и лекарство"*, 480 (2001).
10. А. А. Спасов, Л. И. Бугаева, Е. А. Кузубова, И. С. Морозов, *Тез. докл. "Человек и лекарство"*, 550 (2000).
11. А. А. Спасов, Т. В. Хамидова, Л. И. Бугаева, И. С. Морозов, *Хим.-фарм. журн.*, **34**(1), 3 – 9 (2000).

Поступила 26.04.02

THE EFFECT OF HIMANTANE ON RAT EMBRYO DEVELOPMENT

A. D. Durnev, N. M. Smol'nikova, E. P. Nemova, E. A. Val'dman, N. I. Avdyunina, B. M. Pyatin, and S. B. Seredenin

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

Himantane introduced via a gastric tube to pregnant rats in a dose of 10, 30, 50, and 100 mg/kg produced a dose-dependent embryotoxic and teratogenic action. An analysis of the experimental results and published data suggests that the embryotoxicity of himantane can be related to its general toxic action upon the organism of pregnant female rats.