

ТОКСИКОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ВЛИЯНИЕ НОВОГО ВЕЩЕСТВА С АНТИДЕПРЕССИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ПРОЦЕССЫ ОРГАНО- И ФЕТОГЕНЕЗА, РЕГИСТРИРУЕМЫЕ В АНТЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ

Л. И. Бугаёва, И. Н. Тюренков, Т. Д. Денисова, Ю. А. Морозова¹

В экспериментах на беременных крысах-самках установлено, что производное гидрохлорид бета-фенилглутаминовой кислоты (нейроглютам), проявляющее антидепрессивную и анксиолитическую активность, при внутрижелудочном введении в дозах 26, 130 и 650 мг/кг крысам-самкам с 6 по 16 дни беременности не повреждает процессы органо- и фетогенеза, регистрируемые в антенатальный период развития плодов. Под влиянием вещества понижается эмбриональная гибель и улучшаются процессы пренатального развития плодов. Гидрохлорид бета-фенилглутаминовой кислоты при интрагастральном введении беременным крысам в период органогенеза в дозах 26, 130 и 650 мг/кг активизирует процессы оссификации плодов в грудном отделе на 11,1 % ($p < 0,001$), 8,3 % ($p < 0,001$) и на 2,8 % ($p < 0,05$), соответственно.

Ключевые слова: производные ГАМК и глутаминовой кислоты; нейроглютам (глутарон); доклинические исследования; эмбриотоксичность; органо- и фетогенез; антенатальное развитие; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с ростом распространенности патологии ЦНС мировое потребление психотропных препаратов данного ряда возросло за последние 20 лет более чем в 5 раз. При этом на Российском фармацевтическом рынке преобладают психотропные препараты зарубежного производства, многие из которых обладают недостаточной эффективностью, но большим количеством побочных эффектов [3, 7]. Поиск и разработка новых эффективных и малотоксичных препаратов отечественного производства является актуальной задачей. В этом отношении обращают на себя внимание научно-исследовательские работы фармакологов и химиков-синтетиков, проводимые на протяжении ряда лет в ВолГМУ. Среди структурных аналогов ГАМК и глутаминовой кислоты [1] было обнаружено новое малотоксичное соединение гидрохлорид бета-фенилглутаминовой кислоты, получившее название нейроглютам (глутарон), обладающее широким спектром психотропного действия: антидепрессивным, анксиолитическим, нейропротекторным и ноотропным [1, 7, 9]. Установлено, что по степени токсичности данное вещество относится к классу малотоксичных, диапазон уровня ЛД₅₀ при внутрижелудочном введении крысам составляет 7362,79 – 9783,44 мг/кг, а экспериментально доказанная терапевтически эффективная доза равна 26 мг/кг (или 1/326 от ЛД₅₀ [2]). В настоящее время решается вопрос о внедрении нейроглутама в клиниче-

скую практику в качестве антидепрессантного и анксиолитического лекарственного средства. Учитывая предполагаемые перспективы клинического использования нейроглутама, целесообразно изучить аспекты его влияния на процессы репродукции.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты (нейроглютам, глутарон), на процессы органо- и фетогенеза, регистрируемые в антенатальный период развития плодов у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследованию подлежала субстанция глутарона, синтезированная на кафедре органической химии ФГБОУ ВПО РГПУ им. А. И. Герцена (Санкт-Петербург, Россия). Уровень примесей, по данным кафедры фармхимии Пятигорского медико-фармацевтического института — филиала ГБОУ ВПО ВолГМУ, не превышает 0,1 % сульфатной золы. Эксперименты выполнены на 80 виргинных половозрелых нелинейных белых крысах-самках 4-месячного возраста массой 200 – 240 г и интактных крысах-самках, участвующих в спаривании с крысами-самками. Животные доставлены одной партией из специализированного питомника ФКУЗ “Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт” Роспотребнадзора. Содержание животных и проведение с ними манипуляций соответствовало правилам лабораторной практики (Приказ Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 № 708Н “Об утверждении правил лабораторной практики”) [4]. Протокол локального этического комитета за № 140-2011 от 11.06.2011 г.

¹ НИИ фармакологии ВолГМУ, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов 1.

Влияние глутарона на процессы органо- и фетогенеза, регистрируемые в антенатальный период развития, исследовали с учетом методических рекомендаций по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств “Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств” [4].

Согласно цели исследования, крысы-самки были распределены на 3 опытные и 1 контрольную группы, в каждую группу входили 20 беременных крыс. Первым днём беременности у самок, накануне ссаженных с самцами, считали день обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке. Опытным группам крыс-самок с 6 по 16 дни беременности (период органогенеза) вводили субстанцию глутарона интрагастрально в дозах: 26 мг/кг — 1-я опытная группа; 130 мг/кг (доза, промежуточная между токсической и терапевтической, превышающая терапевтическую в 5 раз) — 2-я опытная группа; 650 мг/кг (условно токсическая доза, превышающая терапевтически эффективную в 25 раз) — 3-я опытная группа. Контрольной группе вводили дистиллированную воду в объеме 20 мл/кг, что соответствовало объему вводимого раствора субстанции глутарона.

В период эксперимента у исследуемых беременных самок оценивали общее состояние, прирост массы тела выражали в граммах (г). На 20 день беременности опытных и контрольных крыс-самок подвергали эктаназии методом дислокации шейных позвонков [3, 4]. На вскрытии у самок выделяли яичники и рога матки. В яичниках подсчитывали число желтых тел беременности, в рогах матки — количество живых, мертвых и резорбированных плодов. На основании полученных данных вычисляли пред- и постимплантационную гибель плодов [4]. Выделенные из рогов матки эмбрионы визуально осматривали на предмет обнаружения внешне видимых аномалий развития, у них определяли пол, измеряли массу тела (г) и краниокаудальные размеры (см). Выделенные плоды делили на 2 части. Одну часть плодов фиксировали в растворе Буэна по методу Вильсона [4]. Затем эти плоды послойно разделяли и исследовали под бинокулярным микроскопом на предмет обнаружения аномалий развития внутрен-

них органов. Другую часть плодов фиксировали в 96° этаноле и после окраски ализарином исследовали состояние формирования скелета [4].

Результаты исследований подвергали статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel. Достоверность изменений оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам наблюдений за беременными крысами-самками опытных и контрольных групп не выявлено существенных различий в состоянии и приросте массы тела. Динамика прироста массы тела крыс приведена в табл. 1. При этом в период введения глутарона, а впоследствии после его отмены, у крыс самок в 1-й опытной группе выявляется тенденция большего прироста массы тела относительно группы контроля и 2-й и 3-й опытных групп самок. Так прирост массы беременных самок в 1-й опытной группе в период введения нейроглутама (с 6 по 16 дни) составил 15,6 % ($p < 0,05$), а после его отмены (с 16 по 20 дни) — 16,3 % ($p < 0,05$). На данные периоды измерений прирост массы тела у беременных крыс-самок во 2-й и 3-й опытных группах практически не отличался от данных контроля.

Выявленные межгрупповые тенденции различий в приросте массы тела беременных самок не выходили за рамки физиологической нормы прироста и, вследствие этого, вероятно, не могут расцениваться с позиции негативного воздействия вещества, что подтверждалось и последующими исследованиями.

Результаты изучения влияния субстанции глутарона на процессы эмбриогенеза представлены в табл. 2.

Из приведенных в табл. 2 данных видно, что у беременных самок не прослеживается патологических изменений в процессах зачатия и антенатального развития плодов. При этом относительно контроля у самок в опытных группах отмечается дозозависимая тенденция снижения числа желтых тел беременности: в 1-й опытной группе на 4,8 % ($p > 0,05$); во 2-й и 3-й опытных группах различия достигают достоверности, число желтых тел снижено на 11,9 % ($p < 0,01$). Наряду с

Таблица 1. Влияние нейроглутама (внутрижелудочно, 6 – 16 дни беременности) на прирост массы тела беременных крыс (г), ($M \pm m$)

Периоды измерений, дни	Вариант опыта			
	контроль вода дистиллированная	группа 1 26 мг/кг	нейроглутам	
			группа 2 130 мг/кг	группа 3 650 мг/кг
0	210,2 ± 2,03	209,2 ± 1,75	206,3 ± 1,91	208,9 ± 1,87
6	227,2 ± 2,69	229,6 ± 2,17	222,6 ± 3,06	224,7 ± 2,23
16	260,4 ± 3,01	265,5 ± 3,16*	259,9 ± 3,98	258,1 ± 2,02
20	295,0 ± 4,03	308,8 ± 4,84*	285,0 ± 5,06	285,2 ± 5,04

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

Таблица 2. Эмбриотоксическое действие нейроглутама (внутрижелудочно, 6 – 16 дни беременности) на крысах ($M \pm m$)

Исследуемый параметр (на 1 самку)	Вариант опыта			
	Контроль вода дистиллированная	группа 1 26 мг/кг	нейроглутам	
			группа 2 130 мг/кг	группа 3 650 мг/кг
Желтые тела, количество	12,6 ± 0,22	12,0 ± 0,39	11,1 ± 0,37**	11,1 ± 0,35**
Места имплантаций, количество	10,9 ± 0,53	11,3 ± 0,40	10,2 ± 0,42	10,1 ± 0,29
Резорбция плодов, количество	0,3 ± 0,13	0,0 ± 0,00*	0,0 ± 0,00*	0,1 ± 0,05
Доимплантационная гибель, %	12,9 ± 2,19	6,2 ± 1,23*	8,4 ± 1,48	8,6 ± 2,31
Послеимплантационная гибель, %	2,5 ± 1,04	0,0 ± 0,00*	0,0 ± 0,00*	0,5 ± 0,50
Количество плодов	10,6 ± 0,52	11,3 ± 0,40	10,2 ± 0,42	10,0 ± 0,30
Размеры плода, см	3,1 ± 0,04	3,1 ± 0,02	3,1 ± 0,03	3,0 ± 0,02*
Масса плода, г	2,3 ± 0,05	2,3 ± 0,04	2,3 ± 0,05	2,2 ± 0,05**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ — различия достоверны относительно контроля.

этим в рогах матки самок 1-й опытной группы обнаружены недостоверные тенденции увеличения числа мест имплантаций на 3,7 % ($p > 0,05$), а у самок во 2-й и 3-й опытных группах, наоборот, уменьшение числа мест имплантаций на 6,4 % ($p > 0,05$) и 7,3 % ($p > 0,05$), соответственно. Выявленные тенденции не выходили за рамки физиологической нормы, но при этом, вероятно, отразились на плодовитости самок. Так, у самок в 1-й опытной группе при полном отсутствии резорбций количество живых плодов возросло на 6,6 % ($p > 0,05$). У крыс-самок во 2-й и 3-й опытных группах количество живых плодов практически не различалось с данными контроля, тогда как резорбции отсутствовали во 2-й опытной группе и были существенно снижены на 66,7 % ($p > 0,05$) в 3-й опытной группе.

Из представленных данных можно предположить наличие у нейроглутама положительного влияния на

процессы пренатального развития плодов на основании результатов расчета до- и послеимплантационной гибели плодов. Отмечено, что доимплантационная гибель плодов недостоверно снижалась у крыс самок в 1-й опытной группе на 51,9 % ($p > 0,05$), во 2-й опытной группе — на 34,9 % ($p > 0,05$), в 3-й опытной группе — на 33,3 % ($p > 0,05$). Одновременно послеимплантационная гибель плодов отсутствовала у самок в 1-й и 2-й опытных группах и снижалась на 80 % ($p > 0,05$) у самок в 3-й опытной группе.

При обследовании плодов, выделенных у беременных самок, получавших нейроглутам, не обнаружено уродств, внешне видимых аномалий развития и подкожных геморрагий. При этом краниокаудальные размеры и масса тела эмбрионов от самок в 1-й и 2-й опытных группах не различались с данными контроля,

Таблица 3. Влияние нейроглутама (внутрижелудочно, 6 – 16 дни беременности) на процессы оссификации плодов ($M \pm m$)

Точки оссификаций (на 1 самку)	Вариант опыта			
	контроль вода дистиллированная	группа 1 26 мг/кг	нейроглутам	
			группа 2 130 мг/кг	группа 3 650 мг/кг
Грудина	3,6 ± 0,05	14,0 ± 0,00***	3,9 ± 0,03***	3,7 ± 0,05*
Ребра	12,0 ± 0,01	12,0 ± 0,02	12,0 ± 0,02	12,0 ± 0,02
Позвонки	21,2 ± 0,04	21,2 ± 0,04	21,1 ± 0,04	21,0 ± 0,03
Верхние конечности, левая и правая				
Лопатка	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00
Ключица	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00
Конечность	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00
Пястна	3,0 ± 0,01	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	2,9 ± 0,04*
Нижние конечности, левая и правая				
Тазовые	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00
Конечность	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00
Плюсна	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,01

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ — различия достоверны относительно контроля.

а у эмбрионов в 3-й опытной группе достоверно, но не существенно, снижались (табл. 2).

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что субстанция глутарон при внутрижелудочном введении в период органогенеза беременным крысам самкам в дозах 26, 130 и 650 мг/кг не оказывает влияния на процессы органо- и фетогенеза, но при этом способствует снижению до- и послеимплантационной гибели плодов во всех дозах, что, вероятно, можно расценивать как наличие у глутарона положительного влияния на качество антенатального развития плодов. О положительном влиянии субстанции глутарон на процессы органо- и фетогенеза свидетельствуют также и результаты макроскопических исследований послойных срезов эмбрионов, на которых не обнаружено ни аномалий развития внутренних органов, ни наличия геморрагий в головном мозге, грудном и брюшном отделах, а также и результаты подсчета оссифицированных точек скелета.

Из представленных в табл. 3 данных видно, что количество оссифицированных точек скелета в позвоночном отделе и конечностях у эмбрионов в опытных группах не отличалось относительно контроля, но при этом повышено в грудном отделе на 11,1 % ($p < 0,001$) — в 1-й опытной группе; на 8,3 % ($p < 0,001$) — во 2-й опытной группе и на 2,7 % ($p < 0,05$) — в 3-й опытной группе.

С учетом представленных результатов и общепринятой классификации (Рекомендации FDA: Federal Drug Administration) разделения лекарственных средств по степени тератогенности, вещество нейроглутам можно отнести к категории “В”. Согласно данной категории к ней могут быть отнесены лекарственные средства, для которых не обнаружено наличие эмбриотоксического и тератогенного действия в эксперименте.

ВЫВОДЫ

1. Гидрохлорид бета-фенилглутаминовой кислоты (нейроглутам) при интрагастральном введении беременным крысам в период органогенеза (6 – 16 сут гестации) в дозах 26, 130 и 650 мг/кг не влияет на общее состояние самок, не обладает органотоксическим действием.

2. Гидрохлорид бета-фенилглутаминовой кислоты (нейроглутам) при интрагастральном введении беременным крысам в период органогенеза в дозах 26, 130 и 650 мг/кг активизирует процессы оссификации плодов в грудном отделе на 11,1 % ($p < 0,001$), 8,3 % ($p < 0,001$) и на 2,8 % ($p < 0,05$), соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Багметова, Ю. В. Чернышева, О. В. Меркушенкова, *Инновации в современной фармакологии, Материалы IV съезда фармакологов России*, Казань, 18 – 21 сентября 2012 г., Москва (2012).
2. Л. И. Бугаева, И. Н. Тюренков, В. В. Багметова и др., *Вестник Волгоградского гос. мед. универ.*, 4(44), 34 – 37 (2012).
3. А. Б. Зборовский, И. Н. Тюренков, Ю. Б. Белоусов, *Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств*, ООО “Мед. ин-форм. агенство”, Москва (2008).
4. А. И. Матюшин, В. С. Осняч, Т. Н. Павлова, *Деонтология медико-биологического эксперимента*, Республиканский учебно-методический комитет по высшему и среднему образованию Минздрава РСФСР, Москва (1987).
5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2012).
6. И. В. Саноцкий, В. Н. Фоменко, *Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм*, Медицина, Москва (1979).
7. А. Б. Смудевич, *Рус. мед. ж.*, № 9, (2011); URL: <http://www.rmj.ru/articles/7662.htm> (дата обращения 14.08.2013).
8. И. М. Трахтенберг, Р. Е. Сова, В. О. Шефтель, Ф. А. Оникенко, *Проблемы нормы в токсикологии*, Медицина, Москва (1991).
9. Ю. В. Чернышева, *Автореф. дис. кан. мед. наук*, Волгоград (2013).

Поступила 30.12.15

INFLUENCE OF A NEW SUBSTANCE WITH ANTIDEPRESSANT ACTIVITY ON ORGANO- AND FETOGENESIS PROCESSES REGISTERED DURING ANTHENATAL PERIOD

L. I. Bugaeva, I. N. Tyurenkov, T. D. Denisova, and Yu. A. Morozova

Research Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1a, Volgograd, 40013 Russia

Experiments on pregnant female rats showed that the beta-phenylglutaminic acid hydrochloride derivative neuroglutam (glutaron), exhibiting antidepressant and anxiolytic activity upon intragastric administration in doses of 26, 130 and 650 mg/kg to female rats from 6 to 16 days of pregnancy, does not impair organo- and fetogenesis processes (developments of fetus) registered during the anthenatal period, decreases fetal death, and activates the processes of prenatal development of the fetus by 11.1% ($p < 0.001$), 8.3% ($p < 0.001$), and 2.8% ($p < 0.05$), respectively.

Keywords: GABA derivatives; glutamic acid derivatives; neuroglutam (glutaron); preclinical research; embryotoxicity; organogenesis; fetogenesis; anthenatal development; rats.