

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛА БИШОФИТ ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) НА АНТЕНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПЛОДОВ

Л. И. Бугаева, С. А. Лебедева, А. А. Спасов¹

Установлено, что минерал бишофит обладает низкой токсичностью и в зависимости от дозы влияет на антенатальное развитие плодов крыс. Бишофит в дозах 0,01 и 0,1 мл/кг способствует повышению индекса плодовитости и качеству эмбрионального развития плодов. Под действием данного вещества в дозе 1 мл/кг, индекс плодовитости у беременных самок снижался и угнетались процессы формирования скелета у эмбрионов крыс.

Ключевые слова: бишофит, магний, крысы, острая токсичность, беременность, эмбриональное развитие

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы достигнуто многое в понимании роли ионов магния в регуляции различных систем и функций организма в норме, при патологии, а также при стрессе и беременности. Известно, что при недостатке магния в период беременности могут возникать спонтанные аборт, проэклампсия, гестозы, замедление фетального роста и другие осложнения [2 – 4]. Для коррекции уровня магния в организме беременным женщинам часто назначают такие магнийсодержащие препараты, как магне-В6, магния сульфат, а также хлорид магния. Следует отметить, что применение в медицинской практике сульфата магния может приводить к снижению щелочного равновесия, нарушению функций ЦНС [3], тогда как хлорид магния таких побочных эффектов не имеет [4]. Необходимо отметить, что к минералу бишофит (до 95 % бишофита составляет хлорид магния) проявляется большой интерес, при этом разрабатываются лекарственные средства на его основе [3, 8, 9].

Целью настоящей работы явилось изучение острой токсичности минерала бишофит и исследование его эмбриотропных свойств.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной работе исследованию подлежал бишофит (ВФС 42-2950-97) с удельной плотностью — 1,268 г/л и содержанием в сухом остатке гидрохлорида магния 96 – 97 %.

Эксперименты выполнены на 160 половозрелых крысах обоего пола, массой 180 – 220 г доставленных из питомника НИИГТиП г. Волгограда. В виварии НИИ фармакологии ВолГМУ крыс помещали в стан-

дартные пластмассовые клетки по 5 особей в каждой, обеспечивали полноценными кормами. Температура воздуха вивария поддерживалась на уровне 20 – 24 °С. Освещение вивария было совмещенным (естественное с люминесцентным).

При изучении острой токсичности бишофит вводили крысам внутрижелудочно металлическим зондом в токсических дозах. Контрольным крысам в эквивалентных объемах вводили физиологический раствор. Наблюдения за животными вели в течение 15 дней. Отмечали динамику и клинику отравления веществом, фиксировали летальные исходы и процессы реабилитации физической активности у животных, оставшихся в живых. Расчет границ ЛД₅₀ проводили по методу Литчфильда и Уилкоксона [6, 7].

Изучение влияния бишофита на эмбриогенез проводили на 70 беременных крысах-самках. Учитывая общепринятые подходы по доклиническому изучению трансплацентарных свойств [7], бишофит вводили беременным самкам в периоды органогенеза (6 – 16-й дни беременности, 1, 2 и 3-я группы) в дозах 0,01; 0,1 и 1 мл/кг (соответствуют дозам 0,91 мг/кг; 9,1 мг/кг и 91 мг/кг с содержанием элементарного магния) и фетогенеза (16 – 19-й дни беременности, 4 и 5-я группы) в дозах 0,1 и 1 мл/кг [7]. Животные контрольной группы получали отстоянную воду.

В период проведения экспериментов у беременных самок исследовали общее состояние, поведение, регистрировали динамику массы тела. Взвешивание крыс проводили на первый, шестой, пятнадцатый и двадцатый дни беременности. На двадцатый день беременности умерщвляли самок посредством дислокации шейных позвонков, разрешенной Международной Конвенцией по умерщвлению животных [7].

На вскрытии у самок выделяли яичники и рога матки с эмбрионами. В яичниках определяли количество желтых тел беременности, а в рогах матки — число

¹ НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград, 400131, пл. Павших борцов, 1а.

живых, мертвых и резорбированных плодов. Вычисляли показатель эмбриональной (пред- и постимплантационной) гибели и индекс плодовитости. Плоды обследовали макро- и микроскопически (микроскоп МБС), взвешивали, массу тела эмбрионов выражали в г, измеряли краниокаудальный размер (см), определяли пол. Выделенные эмбрионы делили на 2 группы. Первую группу (1/3) помещали в раствор Буэна (метод Вильсона, 1986) для изучения состояния внутренних органов. Другую группу (2/3) фиксировали в 96° этаноле с последующим окрашиванием ализарином для изучения состояния скелета (метод Доусона, 1986) [7].

Полученные данные подвергали статистической обработке, достоверность оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении острой токсичности бишофита в клинике отравления у крыс обнаруживались типичные для магнийсодержащих веществ признаки: снижение подвижности, седация, понижение ректальной температуры, частоты дыхания, снижение болевого порога. Кроме того, в токсическом действии препарата имела место активация уринации, дефекации, саливации. Указанные признаки после введения бишофита наблюдали в течение 3–4 ч. В этот период часть животных погибала, чему предшествовали тонико-клонические судороги, урежение дыхания и его остановка. Восстановление физической и поведенческой активности у животных, оставшихся в живых, наблюдали на третьи-четвертые сутки. По результатам расчета ЛД₅₀ бишофита оказалась равной 8,7 мл/кг, что по классификации токсичности веществ [8] позволяет отнести его в разряд малотоксичных. Половых различий в величинах ЛД₅₀ не обнаружено.

При изучении трансплацентарных эффектов у рассола бишофит обнаружено дозозависимое влияние на прирост массы тела беременных самок, процессы зачатия и эмбрионального развития плодов. У беременных самок, получавших бишофит в дозе 0,01 мл/кг, в периоды органогенеза и фетогенеза прирост массы тела несколько (на 15 % при $p > 0,05$) опережал контрольные величины.

Напротив, у крыс, получавших бишофит в дозе 0,1 мл/кг прирост массы (в среднем на 10 %, при $p > 0,05$) отставал от контрольных величин. В 3-й группе животных, получавших препарат в дозе 1 мл/кг, прибавка массы тела самок составила 17,6 % на 16-й день беременности и 27,6 % к окончанию экспериментов. Шерстный покров, состояние слизистых самок, получавших бишофит, при всех изучаемых дозах соответствовали контролю, однако, в их поведении прослеживались элементы седации и адинамии.

По результатам вскрытия (табл. 1) установлено, что под воздействием бишофита у беременных самок из-

меняется индекс плодовитости и качество эмбрионального развития плодов. Так, у беременных самок, получавших бишофит в период органогенеза в дозе 0,01 мл/кг (1 группа) индекс плодовитости увеличился на 14 % ($p < 0,05$) по отношению к контролю. Повышение индекса плодовитости у самок этой группы сочеталось со снижением доимплантационной и постимплантационной эмбриональной гибели. При этом в 1 группе количество плодов на одну самку возросло на 16 % ($p < 0,05$) по отношению к контролю. При обследовании выделенных плодов у самок установлено, что эмбрионы были достоверно больше по массе тела на 12 %, тогда как краниокаудальные размеры тела не отличались от контрольных величин.

В другой серии исследований у беременных самок, получавших бишофит в дозе 0,1 мл/кг, выявлена тенденция снижения индекса плодовитости на 5 и 10 % во 2 и 4 группах соответственно. При этом снижение индекса плодовитости у этих самок было обусловлено повышением эмбриональной гибели. Так, у самок второй группы прослеживалось достоверное повышение эмбриональной постимплантационной гибели (в 3 раза). В 4-й группе у самок постимплантационной гибели не обнаружено. При этом краниокаудальные размеры эмбрионов 2 и 4 групп соответствовали контрольным величинам, а их масса была выше на 13 и 22 % соответственно.

При обследовании беременных самок третьей группы, получавших бишофит в дозе 1 мл/кг, выявлено достоверное снижение индекса плодовитости на 14 % по отношению к контрольной группе. При этом у них прослеживалось повышение эмбриональной гибели, как доимплантационной (19 %), так и постимплантационной (более чем в 4 раза). Краниокаудальные размеры эмбрионов в этой группе соответствовали контрольным величинам, а их масса оказалась на 38 % ниже, чем в контроле.

При морфологическом обследовании послойных срезов внутренних органов у эмбрионов 1 и 2 группы различий с контролем не выявлено. Не обнаружено у этих плодов аномалий и уродств развития. Количество оссифицированных точек скелета, а также наличие подкожных и паренхиматозных мелкоточечных геморрагий было на уровне контрольных значений. У эмбрионов же, выделенных от беременных самок 3 и 5 групп, количество подкожных и паренхиматозных геморрагий возросло в среднем на 30 % по отношению к контролю. По результатам осмотра скелета второй группы эмбрионов выявлено достоверное снижение числа оссифицированных точек (в среднем на 20 %) в конечностях (область пясти и плюсны), позвоночнике и грудине (табл. 2). При осмотре эмбрионов 3-й группы были выявлены подкожные геморрагии, кровоизлияния во внутренние органы, отсутствие оссифицированных точек в области грудины, пясти и плюсны.

Таблица 1. Влияние бишофита (внутрижелудочно) на процессы зачатия у крыс ($M \pm m$)

Показатель (на 1 самку)	Контроль, физиологический раствор	6 – 16 день беременности			16 – 19 день беременности	
		1-я группа, бишофит, 0,01 мл/кг	2-я группа, бишофит, 0,1 мл/кг	3-я группа, бишофит, 1 мл/кг	4-я группа, бишофит, 0,1 мл/кг	5-я группа, бишофит, 1 мл/кг
Желтые тела, шт	12,10 ± 0,75	12,40 ± 0,61	8,91 ± 0,66	11,70 ± 0,71	11,67 ± 0,21	12,8 ± 0,50
Места имплантаций, шт	9,83 ± 0,67	11,38 ± 0,46	7,55 ± 0,53	9,10 ± 0,60	10,20 ± 0,24	10,60 ± 0,50
Доимплантационная гибель, %	18,61 ± 0,12	8,21 ± 0,04*	12,68 ± 0,04*	22,21 ± 0,11	12,60 ± 0,14	17,22 ± 0,09
Послеимплантационная гибель, %	2,12 ± 0,04	0*	7,28 ± 1,09	9,90 ± 0,02*	0*	6,62 ± 0,01*
Количество плодов, шт	9,79 ± 0,42	11,38 ± 0,46*	6,45 ± 0,45	8,20 ± 0,42	10,20 ± 0,24	9,90 ± 0,50
Краниокаудальные размеры, см	2,88 ± 0,04	2,89 ± 0,06	2,89 ± 0,08	2,73 ± 0,03	2,92 ± 0,06	2,90 ± 0,11
Масса плодов, г	3,12 ± 0,05	3,51 ± 0,04*	3,73 ± 0,11	1,93 ± 0,08*	3,80 ± 0,08*	2,90 ± 0,06*
Индекс плодовитости, у. е.	0,81 ± 0,07	0,92 ± 0,04*	0,73 ± 0,05*	0,70 ± 0,02*	0,87 ± 0,05	0,77 ± 0,04

Примечание. * — различие достоверно относительно контрольной группы, при $p < 0,05$. 1. у. е. индекса плодовитости приравнивается к 100 % имплантации эмбрионов к рогам матки крыс.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что бишофит в зависимости от дозы может оказывать различное влияние на процессы зачатия и эмбрионального развития плодов.

Установлено, что минерал бишофит при введении беременным крысам в дозах 0,01 и 0,1 мл/кг интенсифицирует прирост их массы тела в период беременности, повышает у них индекс плодовитости и благоприятно влияет на качественные основы эмбрионального формирования плодов. Бишофит в дозе 1 мл/кг при введении беременным крысам проявляет тенденцию к снижению прироста массы тела у беременных самок, способствует уменьшению индекса плодовитости, угнетает процессы оссификации скелета у эмбрионов, увеличивает количество гемморрагий во внутренних органах. Полученные данные в ходе проведения экспериментов не противоречат литературным источникам.

Можно предположить, что негативное действие бишофита в дозе 1 мл/кг на эмбриогенез, вероятно, обусловлено избыточным поступлением ионов магния в организм беременных крыс и вступлением их в конкурентные отношения с ионами кальция [8, 10]. Возможно, вследствие этого у эмбрионов нарушались процессы оссификации скелета, а также и процессы гемостаза, что способствовало образованию гемморрагий в мягких тканях. Полученные данные согласуются с данными [1]. Авторы отмечают, что у беременных женщин, особенно при длительном парентеральном использовании препаратов магния, могут наблюдаться неблагоприятные эффекты, а у новорожденных возможны пороки развития костей и врожденный рахит.

Таблица 2. Влияние бишофита (внутрижелудочно) на процессы оссификации плодов ($M \pm m$)

Показатель (на 1 самку)	Контроль физиологический раствор	6 – 16 день беременности			16 – 19 день беременности	
		1-я группа бишофит, 0,01 мл/кг	2-я группа бишофит, 0,1 мл/кг	3-я группа бишофит, 1 мл/кг	4-я группа бишофит, 0,1 мл/кг	5-я группа бишофит, 1 мл/кг
Грудина	4,40 ± 0,02	4,32 ± 0,06	3,44 ± 0,02*	0*	4,36 ± 0,08	4,30 ± 0,04
Ребра	12,40 ± 0,92	12,62 ± 0,11	12,63 ± 0,09	12,48 ± 0,08	12,82 ± 0,07	12,56 ± 0,08
Позвонки	31,62 ± 0,06	31,40 ± 0,14	31,42 ± 0,12	26,02 ± 0,01*	31,62 ± 0,06	25,62 ± 0,02*
<i>Верхняя конечность</i>						
Лопатка	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00	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	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	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00
Пясть	3,37 ± 0,02	3,45 ± 0,06	2,61 ± 0,04*	0*	3,38 ± 0,04	2,64 ± 0,08*
<i>Нижняя конечность</i>						
Таз	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00	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	3,0 ± 0,00	3,0 ± 0,00
Плюсна	3,34 ± 0,02	3,30 ± 0,02	2,62 ± 0,06*	0*	3,33 ± 0,04	2,71 ± 0,02*

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

ВЫВОДЫ

1. По результатам изучения острой токсичности и расчета ЛД₅₀ бишофит относится к разряду малотоксичных веществ.

2. Бишофит в дозе 0,01 мл/кг при введении беременным крысам в период органогенеза способствует повышению индекса плодовитости и благоприятно влияет на качество плодов, не оказывает отрицательного влияния на развитие внутренних органов и формирование скелета.

3. Бишофит при введении беременным крысам в дозе 0,1 мл/кг в периоды органо- и фетогенеза не изменяет индекс плодовитости, не влияет на качество плодов, не оказывает отрицательного влияния на развитие внутренних органов. При этом отмечается тенденция к снижению количества оссифицированных точек у эмбрионов.

4. Бишофит в дозе 1 мл/кг при введении беременным крысам в периоды органо- и фетогенеза снижает индекс плодовитости у самок, не влияет на закладку органов и качество плодов, снижает число оссифицированных точек в грудине, пясти и плюсне.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. С. К. Йен, Р. Б. Джаффе, *Репродуктивная эндокринология*, Москва (1998).

2. Л. С. Мазанова, А. А. Спасов и др., *Материалы I Всероссийской конференции "Бишофит в лечении заболеваний суставов"*, Волгоград (1993), с. 8.
3. В. И. Петров, А. А. Спасов, И. Н. Иежица, А. А. Озеров, *Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 200-летию Кавказских Минеральных Вод: "Биоресурсы. Биотехнологии Инновации Юга России". 21–24 октября 2001 г.*, Ставрополь — Пятигорск, Издательство СГУ, Пятигорск (2003), ч. 2, сс. 46–57.
4. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2000).
5. И. В. Саноцкий, *Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм*, Москва (1979).
6. Л. А. Смирнова, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Волгоград (1995).
7. Н. М. Смольникова, *Фармакол. и токсикол.*, № 1, 100–104 (1982).
8. А. А. Спасов, *Магний в медицинской практике*, Волгоград (2000).
9. А. А. Спасов, *Местная терапия бишофитом*, Волгоград (2003).
10. А. А. Спасов, В. И. Петров, И. Н. Иежица и др., *1-й Съезд Российского общества медицинской элементологии (РОС-МЭМ)*, 9–10 декабря, Москва. (2004), Т. 5, вып. 4, сс. 133–135.

Поступила 22.01.07

EFFECT OF STANDARDIZED SOLUTION OF BRINE MINERAL BISCHOFIT ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) ON THE ANTENATAL DEVELOPMENT OF RAT FETUS

L. I. Bugaeva, S. A. Lebedeva, and A. A. Spasov

Research Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131, Russia

A standard solution of mineral bischofit has low toxicity and produces a dose-dependent effect on the antenatal development of rat fetuses. Bischofit in a dose of 0.01 ml/kg and 0.1 ml/kg (daily requirement for magnesium ions) increased the index of fertility and the quality of embryonal development in rats. The index of fertility was reduced and fetal skeleton formation was inhibited after the administration of bischofit in a dose of 1.0 ml/kg.