

УДК 615.9:615.017:616.079+615.2/3.001.37

ОЦЕНКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ПОТОМСТВА КРЫС, ЛАКТИРУЮЩИМ САМКАМ МАТЕРЯМ КОТОРЫХ ВВОДИЛИ ПРЕПАРАТ ЛАДАСТЕН

Т. Д. Денисова, Л. И. Бугаева, Н. М. Щербакова

*Волгоградский государственный медицинский университет,
НИИ фармакологии ВолгГМУ*

В экспериментах на крысах установлено, что препарат Ладастен при интрагастральном введении лактирующим крысам матерям в дозе 30 мг/кг оказывал положительное влияние на общее состояние и отношение к потомству. В наблюдениях за потомствами у развивающихся крысят, крысам матерям которых в период лактации вводили Ладастен, отмечены повышенный прирост массы тела, активизация процессов формирования физического развития, сенсорно-двигательных рефлексов, двигательной активности и сроков полового созревания.

Ключевые слова: Ладастен, эксперименты на неполовозрелых крысах, физическое постнатальное развитие, лактирующие самки.

DOI 10.19163/1994-9480-2017-3(63)-133-136

EVALUATION OF PHYSICAL DEVELOPMENT OF THE OFFSPRING BORN FROM DAMS WHICH RECEIVED LADASTEN DURING LACTATION

T. D. Denisova, L. I. Bugaeva, N. M. Sherbakova

*Volgograd State Medical University,
Research Institute of Pharmacology of the VolgSMU*

Experiments on rats showed that intragastric administration of ladasten at a dose 30 mg/kg to lactating dams exerted positive effects on their general condition and attitude to their offspring. Observational studies of the offspring showed that rats born from dams which received ladasten during lactation gained more weight, developed more quickly, their motor and sensory functions as well as physical activity were enhanced and puberty was precocious.

Key words: ladasten, experiments on immature rats, physical postnatal development, lactating dams.

Психотропный препарат Ладастен (адамантилбромфениламин) в клинической практике применяется в качестве психотонизирующего и анксиолитического средства. Препарат относится к классу малотоксичных [1] с широким диапазоном терапевтического действия. Экспериментально установленная терапевтическая доза Ладастена 30 мг/кг (1/300 от ЛД₅₀) [2], практически соответствует его суточной дозе, используемой в клинической практике. Несмотря на относительную безопасность, у препарата имеются противопоказания назначения женщинам в периоды беременности и грудного вскармливания младенцев. Вместе с тем, в раннее проведенных экспериментальных исследованиях [3], обнаружено отсутствие негативного влияния Ладастена, при внутрижелудочном введении в дозе 30 мг/кг, крысам самкам с 6 по 16 дни беременности на процессы органогенеза, регистрируемые в антенатальный и постнатальный периоды.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Учитывая данные сведения, в настоящей работе сочли целесообразным продолжить доклинические исследования и изучить влияние Ладастена при введении лактирующим крысам на развитие потомства от момента их рождения до 2 месячного возраста.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 40 пометах крысят ($n=320$), полученных от спаривания 4-месячных интактных

крыс самок с самцами. После рождения пометы крыс, фиксированные по 8 особей с одинаковой массой и равным количеством самок и самцов, были разделены на 2 равные группы – опытную и контрольную. Опытная группа – пометы крысят, от самок матерей которым с 3-го по 20-й дни лактации (период молочного вскармливания потомства) внутрижелудочно вводили препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг, что соответствует высшей суточной дозе, применяемой в клинической практике [2]. Контрольная группа – пометы крысят, матери которых были интактными.

Содержание потомств крысят с лактирующими крысами матерями и проведение на них исследований соответствовало правилам лабораторной практики в РФ [6, 9] и методическим рекомендациям, представленных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [10].

В проводимых наблюдениях у лактирующих крыс матерей отмечали общее состояние, динамику прироста массы тела, их отношение к потомству. После рождения пометы крысят в течение одного месяца находились вместе с крысами матерями, а затем их пересаживали в другие клетки, отдельно по полу (самки и самцы отдельно). У потомств крысят наблюдения проводили от рождения до 2-месячного возраста. При этом у них отмечали общее состояние, подвижность, прирост массы тела, формирование физического развития (отлипания ушной раковины, обрастания шерстным покровом, прорезывания резцов, открытия глаз, опущения яичек

в мошонку у самцов и открытия вагины у самок) и сенсорно-двигательных рефлексов («отрицательный геотаксис», «переворачивание на плоскости и в воздухе», «избегание обрыва», «мышечная сила»). Поведенческую активность у крысят исследовали на 30-й и 60-й дни жизни с использованием теста «открытое поле» [10]. Способность 2-месячных крысят к обучению и запоминанию памятного следа изучали с помощью теста «УРПИ» [10].

Результаты исследований подвергали статистической обработке в программе Microsoft Excel с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам наблюдений за общим состоянием лактирующих крыс опытной и контрольной групп существенных различий не выявлено. Шерстный покров у них был гладкий, блестящий, лоснящийся, слизистые оболочки чистые и прозрачные. Динамика изменений массы тела была положительной и достоверно не различалась в группах. Отношение лактирующих самок в исследуемых группах к потомствам было доброжелательным, но при этом, в сравнении с контролем, у самок матерей в опытной группе отмечалось увеличение актов обнюхивания и облизывания своих крысят, переноса их в места гнездования, что, вероятно, можно расценивать проявлением у них большей заботы о потомстве.

В наблюдениях за общим состоянием потомств крысят также не отмечено существенных межгрупповых различий, однако крысята в опытной группе были более подвижными и прирост их массы тела опережал прирост массы контрольных крысят во все периоды измерений (таблица 1).

Таблица 1

Динамика прироста масса тела (г) крысят, крысам матерям которых в период лактации вводили препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг (внутрижелудочно, 2 недели), ($M \pm m$)

Дни измерений	Контрольная группа (интактная)	Опытная группа (Ладастен, 30 мг/кг)
Самцы		
3	6,5 ± 0,2	6,40 ± 0,17
7	10,3 ± 0,11*	11,00 ± 0,17*
14	16,00 ± 0,24*	18,60 ± 0,31*
30	43,10 ± 0,97*	48,90 ± 0,67*
60	62,40 ± 0,54*	68,20 ± 0,97*
Самки		
3	6,3 ± 0,2*	6,20 ± 0,11
7	10,2 ± 0,1*	10,70 ± 0,15*
14	15,90 ± 0,29*	18,50 ± 0,33*
30	41,30 ± 0,77*	46,90 ± 0,59*
60	60,10 ± 0,94*	66,6 ± 0,6*

* $p < 0,05$ – различия достоверны относительно исходного (3-й день жизни).

Наиболее активный прирост массы тела выявлен у опытных крысят в период их молочного вскармливания и дефинитивного питания. Так, на 7-й день жизни прирост массы тела у крысят в опытной группе составил 71 % ($p < 0,05$) у самцов и 72 % ($p < 0,05$) у самок, а в контроле – 58 % ($p < 0,05$) у самцов и 61 % ($p < 0,05$) у самок. На 14-й день жизни прирост массы тела у крысят в опытной группе составил 69 % ($p < 0,05$) у самцов и 72 % ($p < 0,05$) у самок, а в контроле – 55 % ($p < 0,05$) у самцов и 56 % ($p < 0,05$) у самок. Такое же опережение прироста массы тела у опытных крысят относительно контроля сохранялось и в последующие 30-й и 60-й дни наблюдений.

Учитывая полученные результаты и то, что наибольший прирост массы тела у опытной группы крысят фиксировался в периоды их молочного вскармливания и дефинитивного питания, предположили, с одной стороны, возможное активирующее влияние Ладастена на центральные моноаминергические структуры, регулирующие выработку молока у крыс матерей, что не противоречит его механизму действия [5, 7, 8]. С другой стороны, не исключается возможность проникновения Ладастена с молоком матери в организм крысят и наличие его активирующего влияния на механизмы нейроэндокринной регуляции роста и развития крысят. Данное предположение согласуется и с результатами дальнейших наблюдений за потомствами. Так, при оценке физического развития и полового созревания крысят, отсаженных от крыс матерей с учетом половой принадлежности, установлено, что общее состояние и поведение крысят не различалось с таковым в контрольных группах, при этом крысята опытной группы оставались более активными и подвижными. У них также относительно контроля сохранялась активизация прироста массы тела на 30-й и 60-й дни наблюдений (табл. 1). В физическом развитии (табл. 2) у этих крысят в сравнении с контролем отмечено опережение сроков появления первичного волосяного покрова (0,3 дня, $p < 0,05$), прорезывания резцов (0,3 дня, $p < 0,05$), открытия глаз (0,3 дня, $p < 0,05$), поднимания головы и передних лап (0,9 дня, $p < 0,05$), опоры на задние конечности, подъем всего тела (1,0 дня, $p < 0,05$) и ползания (1,0 дня, $p < 0,05$), а в сенсорно-двигательных рефлексах – сокращение сроков формирования безусловных рефлексов в тестах «отрицательный геотаксис» (1,3 дня, $p < 0,05$) и «переворачивание в свободном падении» (1,1 дня, $p < 0,05$). В половом развитии (табл. 2) наблюдалось у самцов в опытной группе опережение сроков опущения яичек в мошонку на 2,0 дня ($p < 0,05$), а у самок – открытия вагины на 3,3 дня ($p < 0,05$).

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что физическое и половое созревание у потомств крысят, матери которых получали внутрижелудочно препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг в период лактации, было завершено к 30-дневному возрасту.

Таблица 2

Физическое развитие крысят, крысам матерям которых в период лактации вводили препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг (внутрижелудочно, 2 недели), ($M \pm m$), дни

Исследуемые параметры	Контрольная группа (интактная)	Опытная группа (Ладастен, 30 мг/кг)
Отлипание ушной раковины	2,10 ± 0,02	2,00 ± 0,02
Появление первичного волосяного покрова	5,30 ± 0,05	5,10 ± 0,05*
Прорезывание резцов	8,90 ± 0,06	8,60 ± 0,08*
Открытие глаз и зрачковый рефлекс	14,80 ± 0,09	14,50 ± 0,06*
Поднимание головы и передних лап	8,30 ± 0,05	7,50 ± 0,06*
Ползание	9,30 ± 0,05	8,40 ± 0,05*
Опора на задние конечности, подъем всего тела	10,30 ± 0,05	9,40 ± 0,05*
Отрицательный геотаксис	7,40 ± 0,06	6,10 ± 0,04*
Переворачивание в свободном падении	19,10 ± 0,04	17,90 ± 0,04*
Опускание семенников	26,20 ± 0,06	24,20 ± 0,06*
Открытие влагалища	33,10 ± 0,09	29,80 ± 0,06*

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

В серии исследований по оценке поведенческих реакций (тест «открытое поле») у крысят 30-дневного возраста в опытной группе относительно группы контроля прослеживалось достоверное повышение числа горизонтальных передвижений на 13,1 % ($p < 0,05$), вертикальных стоек без опоры на 46,8 % ($p < 0,05$), а также актов груминга на 26,3 % ($p < 0,05$) и дефекаций в 2 раза ($p < 0,05$), (табл. 3).

Таблица 3

Двигательное поведение (тест «открытое поле») крысят 30-дневного возраста, крысам матерям которых в период лактации вводили препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг (внутрижелудочно, 2 недели), ($M \pm m$)

Исследуемые параметры	Контрольная группа (интактная)	Опытная группа (Ладастен, 30 мг/кг)
Горизонтальная активность	37,50 ± 0,76	42,40 ± 0,77*
Вертикальные стойки	7,70 ± 0,56	11,30 ± 0,47*
Акты груминга	1,90 ± 0,14	2,40 ± 0,21*
Акты дефекаций	0,30 ± 0,08	0,60 ± 0,09*

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

Из полученных результатов можно предположить, что активизация поведенческой активности у крысят

30-дневного возраста в опытной группе, вероятно, обусловлена, наличием препарата в организме у этих крысят, что согласуется с ранее высказанным предположением о его проникновении в организм, а также с данными литературы о наличии у препарата кумулирующих свойств [4].

В последующих исследованиях у этих крысят в 60-дневном возрасте по сравнению с контрольной группой не обнаружено каких-либо изменений в поведенческой активности (тест «открытое поле»), что может свидетельствовать об отсутствии данного препарата в организме этих крысят и отсутствии у препарата отдаленных эффектов. В проведенных исследованиях, по влиянию препарата на ЦНС (тест «УРПИ»), у крысят в опытной группе относительно контроля также не было выявлено существенных различий при обучении и воспроизведении памятного следа.

Таким образом, из проведенных исследований можно сделать заключение, что препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг при интрагастральном введении лактирующим крысам не оказывает повреждающего действия на общее состояние самок и положительно влияет на их отношение к потомству. При этом из результатов наблюдений за потомствами крысят можно также заключить, что препарат Ладастен, вероятно, проникает в организм крысят и оказывает анаболизирующее влияние на массу тела и активизирует физическое развитие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг при интрагастральном введении лактирующим крысам матерям не оказывает повреждающего влияния на их состояние и отношение к потомству.
2. Препарат Ладастен в дозе 30 мг/кг при интрагастральном введении лактирующим крысам матерям благоприятно влияет на состояние и активизирует физическое развитие потомства крысят.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березовская И.В. // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – № 3. – С. 32–34.
2. Бугаева Л.И., Спасов А.А. Веровский В.Е., Иежица И.Н. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2000. – № 1. – С. 57–62.
3. Бугаева Л.И., Денисова Т.Д., Спасов А.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. – № 4. – С. 23–25.
4. Иежица И.Н. Психо- и нейротоксикологическое изучение актопротекторных препаратов при однократном и хроническом введении: автореф. дис. канд. наук. – Волгоград, 1999.
5. Кудрин В.С., Сергеева С.А., Красных Л.М. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1995. – № 4. – С. 8–12.
6. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33044-2014
7. Морозов И.С., Спасов А.А. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1999. – № 1. – С. 11–15.
8. Морозов И.С., Петров В.И., Сергеева С.А. Фармакология адамантанов, 2001.
9. Приказ МЗ РФ № 199 Н от 01 апреля 2016 г.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронов. Ч.1. – М., 2012. – С. 80–92.

REFERENCES

1. Berezovskaja I.V. Himiko-farmaceuticheskij zhurnal. 2003. no3. S. 32-34.
2. Bugaeva L.I., Spasov A.A. Verovskij V.E., Iezhica I.N. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2000. no1. S. 57-62.
3. Bugaeva L.I., Denisova T.D., Spasov A.A. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2012. no4. S. 23-25.
4. Iezhica I.N. Psiho- i nejrotoksikologicheskoe izuchenie aktoprotekturnyh preparatov pri odnokratnom i hronicheskom vvedenii: avtoref. dis. kand. nauk. Volgograd, 1999.
5. Kudrin V.S., Sergeeva S.A., Krasnyh L.M. i dr. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 1995. no4. S. 8-12.
6. Mezhgosudarstvennyj standart GOST 33044-2014
7. Morozov I.S., Spasov A.A. i dr. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 1999. no1. S. 11-15.
8. Morozov I.S., Petrov V.I., Sergeeva S.A. Farmakologija adamantanov, 2001.
9. Prikaz MZ RF no199 N ot 01 aprelya 2016 g.
10. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv / Pod red. A.N. Mironov. Ch.1. M., 2012. S. 80-92.

Контактная информация

Бугаева Любовь Ивановна – д. б. н., заместитель директора НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: li_bugaeva@mail.ru