

## **ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА АФОБАЗОЛ НА СОСТОЯНИЕ БЕРЕМЕННЫХ САМОК И РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА В ОНТОГЕНЕЗЕ**

**Л. И. Бугаёва, Т. Д. Денисова, Ю. А. Мазанова, И. В. Харламов, С. А. Сергеева**

*НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета*

В экспериментах на беременных крысах-самках показано, что препарат афобазол при пероральном введении в дозе 100 мг/кг с 6-го по 20-й дни беременности не повреждает психоэмоциональное состояние самок в периоды беременности и лактации. При этом у потомств крысят в молочном возрасте динамика прироста массы тела, скорость созревания мышечной силы и двигательное поведение были ниже контрольных значений. У этих же крысят, перешедших на дефинитивное питание, прирост массы тела и поведенческая активность не различались с контрольными показателями, а сроки полового развития запаздывали у крыс-самок и не изменялись у крыс-самцов. К 2-месячному возрасту физическое развитие потомства крысят было полностью сформировано и соответствовало физиологическим нормам.

*Ключевые слова:* препарат афобазол, эксперименты на беременных крысах, потомство крысят, постнатальное развитие, онтогенез.

## **INFLUENCE OF THE PREPARATION AFOBAZOLE ON THE CONDITION OF PREGNANT FEMALES RATS AND DEVELOPMENT OF POSTERITY IN ONTOGENESIS**

**L. I. Bugaeva, T. D. Denisova, J. A. Mazanova, I. V. Harlamov, S. A. Sergeeva**

*Research Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University*

The experiments on pregnant female rats demonstrated that peroral administration of afobazole in a dose of 100 mg/kg from the 6th to the 20th days of pregnancy does not have a negative effect on the psycho-emotional condition of female rats during the periods of pregnancy and lactation. Moreover, the values of the dynamics of weight gain, the rate of muscular force maturation and motor behavior in rat pups were lower than the control ones. In the pups rats receiving Vdefinitive nutrition, the weight gain and behavioural activity did not differ from the control indicators, while the terms of sexual development were later in female rats and did not change in male rats. By the age of two months, the physical development of rat pups was completed and complied with the physiological standards.

*Key words:* afobazole, experiments on pregnant rats, the offspring of rats, postnatal development, ontogenesis.

Несмотря на широкое применение в клинической практике препаратов с анксиолитической активностью, их влияние на состояние беременных и кормящих женщин не достаточно исследовано. Не исключением является и производное бензимидазола — препарат афобазол, который является селективным анксиолитиком и относится к малотоксичным лекарственным средствам. Данных же о целесообразности его использования у беременных и кормящих женщин в доступной литературе представлены не в полной мере. При этом в экспериментах установлено наличие у препарата антитератогенных и антимуtagenных свойств [9, 11, 13], а также отсутствие его влияния на процессы органогенеза, регистрируемые в антенатальный период развития [4].

### **ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

Изучение влияния препарата афобазол на состояние крыс матерей в периоды беременности и лактации и на процессы постнатального развития потомства крысят в онтогенезе.

### **МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ**

Эксперименты проведены на 30 крысах-самках матерях и 30 потомств крысят, разделенных на 2 груп-

пы. Первая группа крысят — опытная, рожденная от крыс матерей, получавших с 6-й по 20-й дни беременности внутрижелудочно препарат афобазол (Россия, ОАО «Фармстандарт-Лексредства»). Вторая группа крысят — контрольная, рожденная от крыс матерей, получавших с 6-й по 20-й дни беременности внутрижелудочно дистиллированную воду в дозе 5 мл/кг. Указанный объем дистиллированной воды использовался для растворения измельченных таблеток препарата афобазол. Учитывая ранее проведенные исследования [4], в которых выявлено отсутствие повреждающего действия афобазола в дозах 5 и 100 мг/кг на процессы органогенеза, регистрируемые в антенатальный период развития, в настоящем исследовании вводили самкам с 6-го дня беременности и до родов афобазол в дозе 100 мг/кг (что соответствует 20-кратной экспериментально доказанной терапевтической дозе).

Наблюдения за состоянием крыс матерей вели в течение беременности до момента родов. При этом у них отмечали общее состояние и поведение, учитывали реакции на внешние раздражители (взятие крысы в руки экспериментатора, введение препарата, хлопок в воздухе, прикорневое нажатие в области хвоста), регистрировали динамику прироста массы тела, продолжительность

беременности, течение родов. У разродившихся крыс самок измеряли массу тела, состояние потомства, величину помета (фиксированных по 6 особей в каждом), а также отношением к ним самок матерей.

Исследования за крысятами проводили от момента рождения и до 2-месячного возраста. После рождения пометы крысят в течение первого месяца находились вместе с самками матерями. За этот период наблюдений у крысят отмечали общее состояние, поведение, измеряли прирост массы тела, регистрировали сроки созревания физического развития, такие как отлипание ушной раковины, обрастание шерстным покровом, прорезывание резцов, открытие глаз и формирования сенсорно-двигательных рефлексов — тест «отрицательный геотаксис», «переворачивание на плоскости и в воздухе», «избегание обрыва», «мышечная сила». По окончании данного периода их отсаживали от крыс матерей и разделяли по полу. Наблюдения за пометами крысят вели до окончания 2-месячного возраста. В этот период у крысят измеряли прирост массы тела, регистрировали сроки полового созревания (опущения яичек в мошонку у самцов и открытия вагины у самок), двигательного поведения (тест «открытое поле») и способности к обучению и запоминанию памятного следа (тест «УРПИ») [5, 8, 12].

Результаты исследований подвергали статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel. О достоверности судили по *t*-критерию Стьюдента с поправкой Бонферони.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У крыс самок, получавших в период беременности препарат афобазол, относительно контроля не выявлено существенных различий по общему состоянию и поведению. Слизистые оболочки были чистыми, шерстный покров гладкий, лоснящийся без патологических изменений, как в опытной, так и в контрольной группе. У беременных самок опытной группы реакции на внешние раздражители (тактильные, болевые) были более устойчивыми и менее выражены по сравнению с контрольной группой. Погибших особей не наблюдалось. За три дня до родов у самок опытной группы, как и в контроле, наступал период гнездования. Появление потомства регистрировалось на 22-й день беременности. При этом отмечены тенденции большего прироста массы тела у опытной группы крыс самок (табл. 1). Так, прирост массы тела на 20-й день беременности в контрольной группе составил 34 %, тогда как у самок в опытной группе 38,0 %.

Такая же тенденция, недостоверная, но отчетливая, прослеживается и у лактирующих самок, вскармливающих свое потомство (табл. 2).

В последующих исследованиях сочли целесообразным количество потомств крысят сделать фиксированным. В этой связи у каждой крысы-самки оставляли по 6 крысят. Отношение самок к появившемуся по-

томству было обычным. Случаев отказа от вскармливания матерью новорожденных крысят не наблюдалось.

Таблица 1

### Влияние препарата афобазол (внутрижелудочно, 6—16-й дни беременности) на прирост массы тела (г) беременных крыс ( $M \pm m$ )

Периоды измерений, дни	Варианты опытов	
	Контрольная группа	Опытная группа
Исход	217,50 ± 12,88	218,60 ± 9,68
6	236,00 ± 15,06	239,1 ± 10,0
16	270,70 ± 16,26	275,20 ± 10,88
20	291,10 ± 17,57	302,40 ± 12,64

Таблица 2

### Влияние препарата афобазол (внутрижелудочно, 6—16-й дни беременности) на прирост массы тела (г) лактирующих крыс-матерей ( $M \pm m$ )

Периоды измерений, дни	Варианты опытов	
	контрольная группа	опытная группа
1-й после родов (исход)	241,7 ± 10,3	243,40 ± 19,53
7-й	233,30 ± 11,01	243,60 ± 23,56
14-й	218,20 ± 10,49	234,80 ± 18,18
21-й	210,00 ± 10,62	215,60 ± 21,46

Таким образом, из результатов проведенных наблюдений можно предположить, что препарат афобазол, вводимый беременным крысам с 6-го дня беременности и до родов, не оказывает существенного влияния на общее состояние беременных и лактирующих крыс самок, способствует тенденциям снижения у них психоземotionalного состояния и большего прироста массы тела в период беременности.

Результаты измерений прироста массы тела у потомств крысят с 4-го дня и до 2-месячного возраста представлены в табл. 3. Так, из представленных в таблице данных видно, что прирост массы тела у опытных крысят до 20-дневного возраста отставал от данных контроля на 2,4 г ( $p > 0,05$ ) у самцов и на 5,6 г ( $p > 0,05$ ) у самок.

Однако после перехода опытной группы крысят на дефинитивное питание (окончание молочного вскармливания) прирост их массы тела отчетливо активизировался и к окончанию первого месяца наблюдений практически выравнивался с контролем. Полученные данные, вероятно, могут свидетельствовать об активизации пищевой активности у опытного потомства, перешедшего на дефинитивное питание. Данное предположение согласуется с результатами последующих наблюдений. Обнаружено, что к 2-месячному возрасту прирост массы тела у опытных крысят оказался достоверно выше значений контроля на 11,2 г ( $p < 0,001$ ) у самцов и на 7,1 г ( $p < 0,001$ ) у самок.

Таблица 3

**Прирост массы тела (г) крысят от самок, получавших (внутрижелудочно, с 6-го дня беременности до родов, в дозе 100 мг/кг) препарат афобазол ( $M \pm m$ )**

Периоды измерений, дни	Варианты опытов, дозы веществ	
	контрольная группа	опытная группа
Самцы		
4	8,90 ± 0,15	8,50 ± 0,19
7	12,40 ± 0,19	12,40 ± 0,32
14	22,30 ± 0,71	20,60 ± 0,48
21	32,20 ± 0,81	29,80 ± 0,75
30	48,10 ± 0,97	48,10 ± 0,98
60	89,10 ± 0,98	100,30 ± 0,56***
Самки		
4	8,50 ± 0,18	7,7 ± 0,2***
7	11,80 ± 0,25	11,40 ± 0,38
14	21,00 ± 0,93	18,90 ± 0,55
21	32,90 ± 0,83	27,30 ± 0,87***
30	46,80 ± 0,89	43,10 ± 0,53**
60	83,20 ± 0,89	90,30 ± 0,86***

\* $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  — различия достоверны относительно контрольной группы.

На основании проведенных исследований предположили, что сниженный прирост массы тела у крысят инфантильного (молочного) возраста в опытной группе, вероятно, был обусловлен несколькими факторами: снижением продукции молока у кормящих матерей самок, что возможно было обусловлено проникновением препарата с молоком матери в организм крысят, и последующим, отдаленным его депримирующим действием на поведенческие мотивации потомства. Данные предположения в какой-то степени согласуются и с литературными сведениями, известными у другого производного бензимидазола с анксиолитической активностью — препарата бемитил, у которого также показано наличие подобных изменений в физическом развитии у потомства крысят инфантильного возраста, обусловленного проникновением его с молоком матери в организм крысят [10]. Кроме того, известно наличие хорошего проникновения производных бензимидазола через различные тканевые барьеры [1, 2, 6, 7], в том числе и через плацентарный барьер, и способности их кумулировать в жировых тканях [3]. С другой стороны, в силу моноаминергического механизма не исключается возможность и центрального угнетающего влияния препарата на секрецию пролактина, обуславливающего снижение продукции молока, что также могло отразиться не только на приросте массы тела, но и на физическом развитии потомства. Результаты наблюдений за приростом массы тела и физическим развитием молочных крысят в какой-то мере согласуются с данными предположениями.

Так, в физическом развитии у потомств опытных крысят отмечались достоверные тенденции запаздывания сроков открытия глаз (0,4 дня,  $p < 0,001$ ), форми-

рования «зрачкового рефлекса», «избегания обрыва, вызванного визуальным стимулом» (0,3 дня,  $p < 0,01$ ), «мышечной силы» (0,5 дня,  $p < 0,05$ ) и открытия вагины у крысят-самок (9,8 дня,  $p < 0,001$ ). По другим же параметрам, таким как отлипание ушной раковины, появление волосяного покрова, прорезывание резцов, формирование сенсорно-двигательных рефлексов в тестах «переворачивание на плоскости», «отрицательный геотаксис», «избегание обрыва» и «переворачивание в свободном падении», изменений с контролем не выявлено (табл. 4).

Таблица 4

**Физическое развитие и сенсорно-двигательные рефлекс (дни) крысят от самок, получавших (внутрижелудочно, с 6-го дня беременности до родов, в дозе 100 мг/кг) препарат афобазол ( $M \pm m$ )**

Исследуемые параметры	Варианты опытов, (дозы веществ)	
	контрольная группа	опытная группа
Отлипание ушной раковины	3,60 ± 0,08	3,7 ± 0,1
Появление волосяного покрова	4,80 ± 0,07	4,90 ± 0,09
Прорезывание резцов	9,0 ± 0,0	8,90 ± 0,13
Открытие глаз	15,30 ± 0,07	15,70 ± 0,09***
Опускание семенников	25,30 ± 0,11	25,10 ± 0,06
Открытие вагины	46,10 ± 0,14	55,90 ± 0,57***
Переворачивание на плоскости	6,6 0 ± 0,32	6,70 ± 0,31
Отрицательный геотаксис	9,40 ± 0,31	9,10 ± 0,27
Избегание обрыва	9,9 0 ± 0,22	9,70 ± 0,18
Зрачковый рефлекс	15,30 ± 0,07	15,60 ± 0,09
Избегание обрыва (вызванное визуальным стимулом)	15,30 ± 0,07	15,60 ± 0,09**
Мышечная сила	18,30 ± 0,18	18,80 ± 0,12*
Переворачивание в свободном падении	18,30 ± 0,18	18,70 ± 0,10

\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  — различия достоверны относительно контрольной группы.

При изучении двигательного поведения (тест «открытое поле») у опытных крысят в 20-дневном возрасте относительно контроля прослеживалось снижение горизонтальных передвижений и вертикальных стоек, тогда как акты груминга и дефекаций не изменялись.

По результатам исследования поведенческой активности крысят в 1,5-месячном возрасте обнаружено повышение количеств горизонтальных перемещений на 32,2 % ( $p < 0,001$ ) у самцов и на 23,5 % ( $p < 0,001$ ) у самок; вертикальных стоек на 54,4 % ( $p < 0,01$ ) у самцов и на 47,8 % ( $p < 0,001$ ) у самок; актов дефекаций в 1,5—2 раза, но достоверное снижение груминга на 41,7 % у самцов и повышение в 1,5 раза у самок (табл. 5).

Таблица 5

**Эмоционально-двигательное поведение (тест «открытое поле») 45-дневных крысят от самок, получавших (внутрижелудочно, с 6-го дня беременности до родов, в дозе 100 мг/кг) препарат афобазол ( $M \pm m$ )**

Исследуемые параметры	Варианты опытов, дозы веществ	
	контрольная группа	опытная группа
Самцы		
Горизонтальная активность	34,50 ± 0,91	45,60 ± 0,74***
Вертикальная активность	7,90 ± 0,84	12,2 ± 0,9**
Исследовательская активность	4,90 ± 0,62	7,0 ± 0,8*
Акты груминга	1,20 ± 0,22	0,70 ± 0,13
Акты дефекаций	0,10 ± 0,13	2,20 ± 0,55**
Самки		
Горизонтальная активность	37,50 ± 0,95	46,30 ± 0,98***
Вертикальная активность	11,30 ± 0,47	16,70 ± 0,94***
Исследовательская активность	4,90 ± 0,73	4,90 ± 0,61
Акты груминга	0,70 ± 0,12	1,50 ± 0,31*
Акты дефекаций	0,10 ± 0,07	1,50 ± 0,47*

\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  — различия достоверны относительно контрольной группы.

При изучении мнестических реакций (тест «УРПИ») у опытных крысят в 2-месячном возрасте достоверных различий не обнаружено. Вместе с тем, выявлены тенденции снижения памятного следа у самцов и самок, которые прослеживались в повышении количества заходов в темную камеру и времени нахождения в ней (табл. 6).

Таблица 6

**Обучаемость (тест «УРПИ») крысят от самок, получавших (внутрижелудочно, с 6-го дня беременности до родов, в дозе 100 мг/кг) препарат афобазол ( $M \pm m$ )**

Исследуемые параметры	Контрольная группа	Опытная группа
Воспроизведение — самцы		
Латентный период, с	180,0 ± 0,0	179,30 ± 0,67
Время нахождения в камере, с	0,0 ± 0,0	0,7 ± 0,67
Количество заходов	0,0 ± 0,0	0,10 ± 0,07
Воспроизведение — самки		
Латентный период, с	180,0 ± 0,0	177,50 ± 1,15
Время нахождения в камере, с	0,0 ± 0,0	2,50 ± 1,15
Количество заходов	0,0 ± 0,0	0,30 ± 0,12

Таким образом, из проведенных исследований можно заключить, что препарат афобазол в дозе 100 мг/кг

при внутрижелудочном введении беременным крысам-самкам с 6-го по 20-й дни беременности не повреждает психоэмоциональное состояние крыс матерей в период беременности и лактации. При этом не отмечено также негативного влияния препарата афобазол на антенатальное развитие крысят и их физическое и психоэмоциональное состояние в постнатальный период. Отмечены некоторые сдвиги в скорости формирования отдельных показателей (открытие глаз, мышечная сила, открытие вагины у самок), которые не выходили за рамки физиологической нормы и к 2-месячному возрасту были завершены полностью. Обращает на себя внимание, что у потомств крысят в молочном возрасте прирост массы тела снижался, но активизировался после перехода их на дефинитивное, а в последующем и на самостоятельное питание. При этом в поведенческих реакциях у крысят в 20-дневном возрасте двигательное поведение было несколько снижено, тогда как в 1,5-месячном возрасте отчетливо активизировалось. Указанные эффекты, вероятно, могут быть обусловлены как проникновением препарата, возможно, в организм крысят, а также и механизмом его нейронального воздействия на развитие крысят в онтогенезе.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Препарат афобазол в дозе 100 мг/кг при внутрижелудочном введении беременным крысам-самкам (с 6-го дня беременности и до родов) не оказывает повреждающего действия на их общее состояние и поведение.

2. У потомства крысят, находящихся на молочном вскармливании крыс матерей, получавших в период беременности афобазол, снижается прирост массы тела, запаздывают сроки формирования мышечной силы, угнетается двигательное поведение.

3. У потомства развивающихся крысят, от крыс-самок, получавших афобазол в период беременности, к 2-месячному возрасту активизируется прирост массы тела, двигательное и эмоциональное поведение.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Белолипецкая В. Г. Методика определения дибазола в сыворотке крови с помощью высокоэффективной хроматографии / Белолипецкая В. Г., Румянцев Д. О. // Химико-фармацевтический журнал. — 1994. — № 4. — С. 63—64.
2. Бойко С. С. Биодоступность бемитила у крыс / Бойко С. С., Бобков Ю. Г., Жердев В. П. // Химико-фармацевтический журнал. — 1987. — № 11. — С. 1288—1291.
3. Бугаева Л. И. Особенности токсикологического действия препарата бемитил / Бугаева Л. И., Спасов А. А., Иежица И. Н., Кузубова Е. А., Хамидова Т. В., Скрипник С. Р., Кожевникова Е. В. // Вестник Волгоградской медицинской академии. — 1996. — Т. 52, № 2. — С. 23—28.
4. Бугаева Л. И. Исследование пренатального развития плодов крыс, получавших препарат афобазол в период органогенеза / Бугаева Л. И., Денисова Т. Д., Морозова Ю. А. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2014. — Т. 158. — № 7. — С. 64—67.

5. Буреш Я. // Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. — М.: Высшая школа, 1991. — 210 с.

6. Виглинская А. О. Тканевая биодоступность афобазола и его основных метаболитов у крыс / Виглинская А. О., Колыванов Г. Б., Литвин А. А. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2007. — Т. 143, № 5. — С. 528—530.

7. Колыванов Г. Б. Биотрансформация нового селективного анксиолитика афобазола / Колыванов Г. Б., Виглинская А. О., Литвин А. А. и др. // Тезисы докладов 4-й международной конференции Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам. — М., 2006. — С. 40—41.

8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общ. ред. д. м. н. А. Н. Миронова. — М., 2012. — Часть первая. — С. 80—92.

9. Середенин С. Б. Фармакогенетическая концепция анксиоселективного эффекта / Середенин С. Б., Воронина Т. А., Незнамов Г. Г. и др. // Современные проблемы фармакологии. — 1998. — № 11. — С. 3—9.

10. Спасов А. А. Влияние бемитила на развитие крысят в онтогенезе / Спасов А. А., Бугаева Л. И., Денисова Т. Д.

и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2005. — № 2. — С. 28—32

11. Соломина А. С. Автореф. дис. кан. биол. наук. — М., 2011.

12. Трахтенберг И. М. // Проблемы нормы в токсикологии / Трахтенберг И. М., Сова Р. Е., Шефтель В. О., Онищенко Ф. А. // Современные представления и методические подходы, основные параметры. — М.: Медицина, 1991. — 204 с.

13. Шредер О. В. Влияние афобазола на тератогенные эффекты циклофосамида у крыс / Шредер О. В., Смольникова Н. М., Дурнев А. Д., Середенин С. Б. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2008. — № 4. — С. 414—417.

## Контактная информация

**Денисова Татьяна Дмитриевна** — к. б. н., ассистент кафедры фармакологии, НИИ фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: [tanyaddenisova@mail.ru](mailto:tanyaddenisova@mail.ru)