

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ГАМК — СОЕДИНЕНИЯ РГПУ-151 — НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГЕСТОЗОМ

И. Н. Тюренков¹, В. Н. Перфилова¹, Т. А. Попова¹, В. И. Карамышева¹,
Л. Б. Резникова¹, И. И. Прокофьев¹, И. С. Мокроусов¹, Е. И. Гридин¹,
Л. И. Михайлова¹, В. М. Берестовицкая², О. С. Васильева²

Экспериментальный гестоз, вызванный заменой питьевой воды на 1,8 % раствор хлорида натрия с первого дня гестации до родов вызывает активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что выражено в увеличении концентрации продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и снижении активности ферментов антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в гомогенате ткани мозга, печени, матки и плаценты крыс. Производное гамма-аминомасляной кислоты — соединение РГПУ-151 — ограничивает повреждающее действие экспериментального гестоза, на что указывает уменьшение содержания продуктов ПОЛ и активации ферментов антиоксидантной системы в исследуемых органах животных.

Ключевые слова: экспериментальный гестоз; производные ГАМК; перекисное окисление липидов; антиоксидантные ферменты

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время почти каждая четвертая беременность сопровождается симптомами гестоза, ключевыми из которых являются повышение артериального давления, отеки и протеинурия, связанные с нарушением гемодинамики в микроциркуляторном русле, острой гипоксией тканей, гипергомоцистеинемией и др. [1, 12, 17, 18]. Перечисленные события инициируют окислительные процессы в тканях мозга, печени, матки, плаценты беременных и вызывают смещение равновесия в системе антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сторону последнего [1, 12].

Многие производные ГАМК — соединения РГПУ-147 (цитрат фенибута), РГПУ-189 (салицилат фенибута) и др., обладают вазодилатирующими свойствами, антигипоксическим действием, улучшают микроциркуляцию [7–9], а также препятствуют дисбалансу между ПОЛ и антиоксидантной системой (АОС) при различных патологических состояниях в эксперименте [10, 14]. Все вышеперечисленное явилось поводом для изучения влияния нового производного ГАМК — соединения РГПУ-151 (никотинат фе-

нибута; рис. 1) на баланс ПОЛ/АОС при экспериментальном гестозе (ЭГ).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на белых беспородных беременных самках массой 200–220 г. Факт беременности устанавливали по наличию сперматозоидов во влагалищном мазке. Гестоз моделировали заменой питьевой воды на 1,8 % раствор NaCl с 1-го по 20-й день гестации [16]. Было сформировано 5 групп по 6 животных в каждой: 1 — группа позитивного контроля — беременные самки без ЭГ; 2 группа негативного контроля — самки с ЭГ, получавшие физиологический раствор в аналогичном с опытными группами режиме; 3 и 4 группы — опытные — самки с ЭГ, которым весь период беременности ежедневно один раз в сутки внутрь вводили соединения РГПУ-151 — в дозе 30 мг/кг и препарат сравнения сулодексид — 30 мг/кг.

После аутопсии самок крыс на 20-й день гестации определяли продукты ПОЛ и ферменты антиоксидантной системы в гомогенате, полученном из ткани мозга, печени, матки и плаценты. Определяли концентрацию ТБК-реактивных продуктов по методу И. Д. Стальной в модификации Л. И. Андреевой и соавт. [2]. Расчёт содержания диеновых конъюгатов производили в единицах оптической плотности по методике В. Н. Ушаковой, созданной на основе метода Плацера при длинах волн поглощения 233 нм (определяются диеновые

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, 400005, Волгоград, ул. Павших Борцов, 1.

² Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, 191186, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, 48.

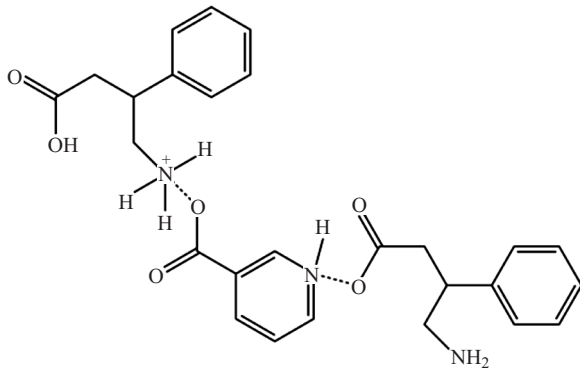


Рис. 1. Структурная формула соединения РГПУ-151.

конъюгаты) и 278 нм (определяются дикетоны) на 1 г белка.

Оценку активности суммарной супероксиддисмутазы (СОД) проводили по степени торможения реакции окисления кверцетина по методу В. А. Костюка [5]. Глутатионпероксидазную (ГП) активность высчитывали по убыли восстановленного глутатиона в реакции с гидроперекисью трет-бутила. Уменьшение количества восстановленного глутатиона определяли фотометрически по реакции с 5,5'-дитиобис[2-нитробензойной кислотой] по методу В. И. Моина [6]. Активность каталазы определяли по методике, предложенной М. А. Королюком и соавт. [4].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента при помощи пакета статистических программ Microsoft Excel 2006. Статистически достоверными различия считали при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В группе негативного контроля отмечали достоверное повышение содержания диеновых конъюгатов в клетках матки — на 66 % ($p \leq 0,05$); мозга — на 128 % ($p \leq 0,01$); плаценты — на 157 % ($p \leq 0,01$), по сравнению с группой беременных самок без ЭГ. У самок, получавших соединение РГПУ-151, уровень диеновых конъюгатов был ниже на 28 % ($p \leq 0,05$) в клетках мозга и на 52 % ($p \leq 0,05$) — в плаценте, по сравнению с группой самок негативного контроля. У животных, получавших препарат сравнения сулодексид, содержание диеновых конъюгатов снижалось преимущественно в клетках плаценты, однако незначительно и статистически недостоверно (рис. 2).

Концентрация кетодиенов в контрольной группе самок с ЭГ статистически достоверно увеличилась в клетках мозга — на 159 % ($p \leq 0,05$), плаценты — на 238 % ($p \leq 0,01$), по сравнению с беременными самками без ЭГ. В группе животных, получавших во время беременности РГПУ-151, данные показатели были значительно ниже, по сравнению с группой негативно-го контроля: в клетках печени — на 29 % ($p \leq 0,01$),

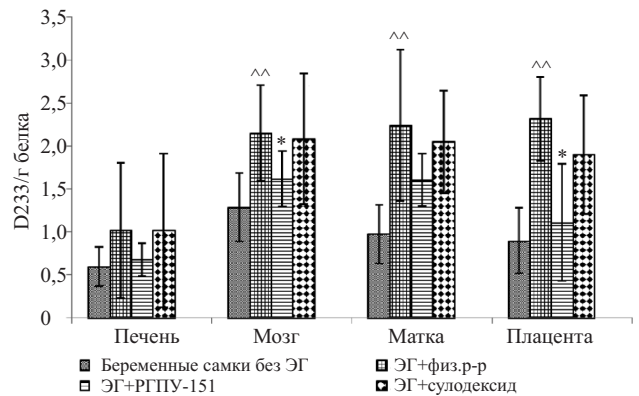


Рис. 2. Концентрация диеновых конъюгатов в гомогенате тканей у самок крыс с экспериментальным гестозом (относительные единицы, длина волны 233 нм).

^^ — $p \leq 0,01$ различия достоверны относительно показателей группы беременных самок без экспериментального гестоза (ЭГ); * — $p \leq 0,05$ — различия достоверны относительно показателей группы беременных самок с экспериментальным гестозом по t-критерию Стьюдента.

мозга — на 53 % ($p \leq 0,05$), плаценты — на 76 % ($p \leq 0,001$). Содержание кетодиенов в опытной группе, получавшей сулодексид, было ниже в клетках плаценты — на 80 % ($p \leq 0,01$), по сравнению с группой самок с ЭГ (рис. 3).

Выявлено, что в контрольной группе животных с ЭГ среднее содержание МДА (малоновый диальдегид) было выше преимущественно в гомогенате клеток печени на 45 % ($p \leq 0,01$) и матки — на 56 % ($p \leq 0,01$), по сравнению с беременными самками группы позитивного контроля. У самок, получавших соединение РГПУ-151, отмечали статистически значимое снижение содержания МДА на 32, 32 и 36 % ($p \leq 0,05$), соответственно в печени, мозге и плаценте, по сравнению с группой самок с ЭГ. У животных, получавших сулодексид, содержание МДА в тканях было меньше, чем в группе негативного контроля: в печени — на 30 % ($p \leq 0,01$), в мозге — на 41 % ($p \leq 0,05$), в плаценте — на 49 % ($p \leq 0,01$) (рис. 4).

Активность СОД у группы самок с ЭГ была статистически достоверно ниже в клетках мозга — на 46 % ($p \leq 0,01$), плаценты — на 44 % ($p \leq 0,01$), по сравнению с группой позитивного контроля. У животных, получавших соединение РГПУ-151, активность фермента была выше в клетках плаценты — на 76 % ($p \leq 0,01$), получавших сулодексид — на 54 % ($p \leq 0,05$) — в клетках печени; 105 % ($p \leq 0,05$) — в клетках мозга и на 53 % ($p \leq 0,01$) в плаценте, по сравнению с группой самок с ЭГ (рис. 5).

Отмечено снижение активности ГП в контрольной группе с ЭГ: в печени на 52 % ($p \leq 0,01$), матке — на 63 % ($p \leq 0,01$), мозге — на 60 % ($p \leq 0,01$), плаценте — на 50 % ($p \leq 0,01$). У самок, получавших соединение РГПУ-151, наблюдали увеличение концентрации ГП, главным образом, в печени на 93 % ($p \leq 0,05$) по

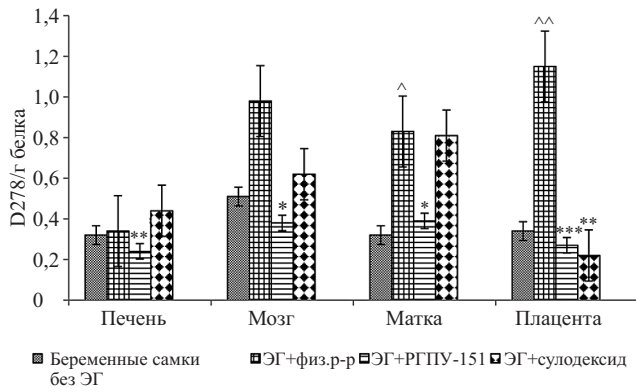


Рис. 3. Концентрация кетодиенов в гомогенате тканей самок крыс с экспериментальным гестозом (относительные единицы, длина волны 278 нм).

Здесь и на рис. 4–6: ^ — $p \leq 0,05$, ^^ — $p \leq 0,01$ различия достоверны относительно показателей группы беременных самок без экспериментального гестоза (ЭГ); * — $p \leq 0,05$, ** — $p \leq 0,01$, *** — $p \leq 0,001$ различия достоверны относительно показателей группы беременных самок с ЭГ по t-критерию Стьюдента.

сравнению с контрольной группой с ЭГ, получавшей физиологический раствор. Активность ГП у животных с ЭГ, получавших сулодексид, была увеличена в матке, мозге и плаценте, однако изменения не были статистически достоверными (рис. 6).

В результате исследования выявлено, что замена питьевой воды на 1,8% раствор хлорида натрия приводит к развитию ЭГ, вызывает смещение баланса в сторону активации процессов ПОЛ, о чем свидетельствует повышенное образование первичных и вторичных продуктов ПОЛ — конъюгированных диенов, кетодиенов и МДА, а также снижение активности антиокислительных ферментов СОД и ГП в гомогенате мозга, печени, матки и плаценты у животных с ЭГ, по сравнению с таковыми при физиологической беременности.

Окислительный стресс является одним из пусковых механизмов нарушения функции эндотелия при гестозе. Повышенная продукция активных форм кислорода вызывает изменения функциональной активности тромбоцитов, способствует повышению продукции

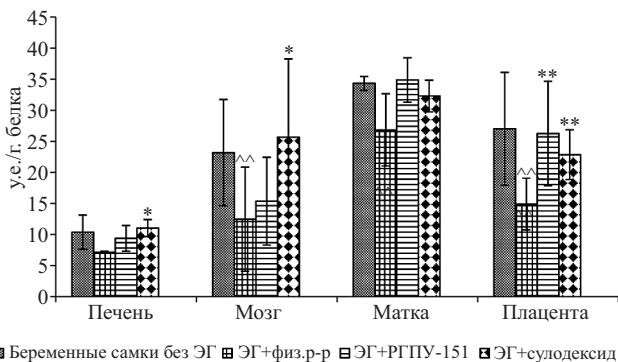


Рис. 5. Активность супероксиддисмутазы в гомогенате тканей самок крыс с экспериментальным гестозом.

Обозначения те же, что на рис. 3.

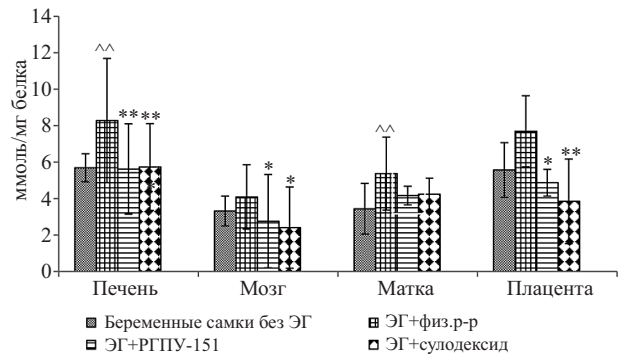


Рис. 4. Концентрация малонового диальдегида в гомогенате тканей самок крыс с экспериментальным гестозом.

Обозначения те же, что на рис. 3.

тромбоксана и снижению — оксида азота клетками эндотелия, вызывая вазоспазм и гиперагрегацию, играет ведущую роль в деструктивном преобразовании мембран клеток [3, 15, 17, 19]. Причиной активации процессов свободнорадикального окисления является нарушение микроциркуляции и сопутствующая ей гипоксия, которая вызывает несоответствие потребления/продукции энергии в клетке. Дефицит АТФ, активация на его фоне фосфолиполиза и ингибирование синтеза фосфолипидов вызывают увеличение концентрации ненасыщенных жирных кислот и индуцируют процессы ПОЛ, что приводит к подавлению активности антиоксидантной системы из-за распада и торможения синтеза белковых компонентов СОД и ГП. Нарушения микроциркуляции при гестозе могут быть вызваны повышением симпатического тонуса и вазоконстрикцией, а также повреждением эндотелия, способствующим генерализованному вазоспазму [13, 17].

Соединение РГПУ-151 ограничивает процессы ПОЛ, снижая концентрацию конъюгированных диенов, кетодиенов и МДА в исследуемых органах, по сравнению с показателями контрольной группы животных с ЭГ, получавших физиологический раствор. При этом повышается активность антиоксидантных ферментов СОД и ГП. У некоторых производных

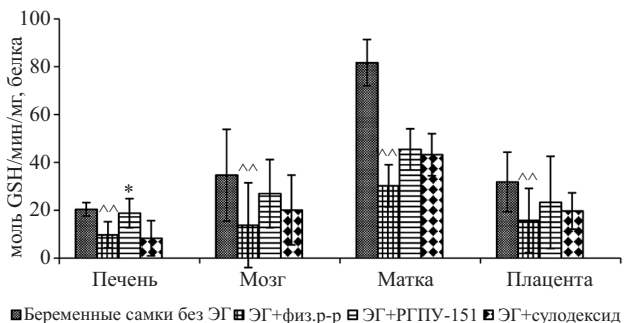


Рис. 6. Активность глутатионпероксидазы в гомогенате тканей самок крыс с экспериментальным гестозом.

Обозначения те же, что на рис. 3.

ГАМК выявлено центральное симпатингибирующее и эндотелиопротекторное действие [9]. Возможно, с этим связано улучшение кровотока в микроциркуляторном русле и ингибирование процессов ПОЛ при ЭГ под влиянием соединения РГПУ-151.

С другой стороны, производные ГАМК могут модифицировать биохимические реакции ГАМК-шунта (шунта Робертса), способствуя увеличению продукции АТФ при недостатке кислорода, ограничению энергодефицита, формированию дополнительного пула НАД⁺ для превращения лактата в пируват и уменьшения неблагоприятного действия лактата на ферменты клеток. Кроме того, производные ГАМК могут активировать пентозофосфатный путь с образованием NADPH₂, который инактивирует свободные кислородные радикалы и ограничивает процессы ПОЛ в мембранах клеток [11].

ВЫВОДЫ

1. Соединение РГПУ-151 ограничивает процессы ПОЛ в тканях самок крыс экспериментальным гестозом, о чем свидетельствует снижение концентрации диеновых конъюгатов на 28 % в клетках мозга и на 52 % — в плаценте, кетодиенов — в клетках печени — на 29 %, мозга — на 53 %, плаценты — на 76 %, малонового диальдегида — на 32; 32 и 36 %, соответственно в печени, мозге и плаценте ($p < 0,05$).

2. Исследуемое соединение способствуют повышению активности супероксиддисмутазы в клетках плаценты на 76 % и глутатионпероксидазы в печени на 93 % ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. К. Айламазян, В. Е. Радзинский, В. И. Кулаков, Г. М. Савельева, *Акушерство. Национальное руководство*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2009).

- Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун, *Лаб. дело*, № 11, 41 – 43 (1988).
- Ю. Э. Доброхотова, Э. М. Джобава, А. В. Степанян, Д. Н. Алиева, *Лечебное дело*, № 2, 59 – 63 (2008).
- М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др., *Лаб. дело*, № 1, 16 – 19 (1988).
- В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалёва, *Вопр. мед. хим.*, **44**(2), 88 – 91 (1990).
- В. М. Моин, *Лаб. дело*, № 12, 12 – 16 (1986).
- В. Н. Перфилова, *Автореф. дис. д-ра биол. наук*, Волгоград (2009).
- В. Н. Перфилова, И. Н. Тюренков, О. Ю. Гречко и др., *Вестн. ВолГМУ*, № 1, 74 – 76 (2010).
- В. Н. Перфилова, И. Н. Тюренков, С. А. Лебедева и др., *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*, **5**(2), 78 – 81 (2006).
- В. Н. Перфилова, И. Н. Тюренков, С. А. Лебедева и др., *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*, **6**(4), 64 – 67 (2007).
- К. С. Раевский, В. П. Георгиев, *Медиаторные аминокислоты: нейрофармакологические и нейрохимические аспекты*, Медицина, Москва (1986).
- И. С. Сидорова, Л. С. Калюжина, *Акуш. и гин.*, № 5, 55 – 59 (1998).
- А. Н. Трунов, О. Г. Пекарев, О. М. Горбенко, *Бюл. СО РАМН*, **31**(1), 78 – 82 (2011).
- И. Н. Тюренков, В. Н. Перфилова, Т. А. Попова и др., *Бюл. экпер. биол.*, **155**(3), 340 – 343 (2013).
- М. А. Bazavilvaso-Rodríguez, M. Hernández-Valencia, J. G. Santillan-Morelos, et al., *Arch. Med. Res.*, **42**(3), 195 – 198 (2011).
- A. Beausejour, K. Auger, J. St-Louis, M. Brochu, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **285**(1), 375 – 383 (2003).
- M. Boutet, L. Roland, N. Thomas, J. F. Bilodeau, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **200**(5), 530 e1 – 7, (2009).
- J. M. Davidson, V. Homuth, A. Jeyabalan, et al., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **15**(9), 2440 – 2448 (2004).
- I. Mert, A. S. Oruc, S. Yuksel, et al., *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, **38**(4), 658 – 664 (2012).

Поступила 18.09.13

EFFECT OF GABA DERIVATIVE – RSMU-151 ON THE DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS IN RATS WITH EXPERIMENTAL GESTOSIS

I. N. Tyurenkov¹, V. N. Perfilova¹, T. A. Popova¹, V. I. Karamysheva¹, L. B. Reznikova¹, I. I. Prokof'ev¹, I. S. Mokrousov¹, E. I. Grindin¹, L. I. Mikhailova¹, V. M. Berestovitskaya², and O. S. Vasil'eva²

¹ Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov la, Volgograd, 400005, Russia

² Herzen State Pedagogical University, nab. Moiki 48, St. Petersburg. 191186, Russia

Experimental gestosis induced in rats by drinking 1.8% sodium chloride solution instead of water during the entire period of pregnancy leads to activation of lipid peroxidation (LPO) process, as manifested by increased concentration of diene conjugates and malonic dialdehyde, decreased concentration of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and glutathione peroxidase) in homogenates of rat brain, liver, uterus, and placenta. The GABA derivatives – RSMU-151 limits the damaging effect of gestosis, which is manifested by a decrease in the concentration of LPO products and by activation of the antioxidant system enzymes in all organs studied.

Key words: experimental gestosis; GABA derivatives; lipid peroxidation; antioxidant enzymes