

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ БЕТА-ФЕНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛУТАМИНОВОЙ И ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТ НА МОЗГОВОЙ КРОВОТОК И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ НЕОБРАТИМОЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Е. В. Волотова¹, Д. В. Куркин¹, Н. В. Мазина¹, В. М. Берестовицкая², О. С. Васильева²

Проведен сравнительный анализ влияния фенильных производных глутаминовой (РГПУ-135) и гамма-аминомасляной кислот (фенибут) на мозговой кровоток, вазодилатирующую функцию эндотелия и количество циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов у животных после необратимой окклюзии общих сонных артерий. Установлено, что у животных, профилактически получавших соединение РГПУ-135, после окклюзии общих сонных артерий отмечается более высокий мозговой кровоток и меньшая выраженность эндотелиальной дисфункции, чем у животных, которым вводили фенибут.

Ключевые слова: эндотелий; эндотелиальная дисфункция; десквамированные эндотелиоциты; мозговое кровообращение; ГАМК; глутаминовая кислота

ВВЕДЕНИЕ

Установлено, что при различных сердечно-сосудистых заболеваниях (инсульт, гипертоническая болезнь, ИБС и др.) наблюдается нарушение равновесия между вазодилатирующими, антитромботическими, противовоспалительными и сосудосуживающими, тромботическими, воспалительными факторами, т.е. дисфункция эндотелия (ЭД), которая в значительной степени влияет на течение и исход этих заболеваний [3, 5, 7, 11]. В последние годы эндотелий стал рассматриваться как самостоятельная мишень терапевтического воздействия с целью профилактики и лечения сосудистых осложнений и снижения риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [10].

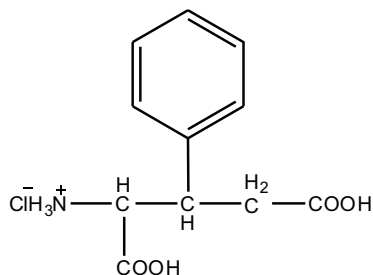
В проведенных нами ранее исследованиях установлено, что оба фенильных производных — глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот уменьшают выраженность психоневрологического дефицита у животных с острыми нарушениями мозгового кровообращения [2, 9]. Можно предположить, что церебропротекторное действие этих производных связано с улучшением мозгового кровообращения, которое в свою очередь в значительной мере зависит от функционирования эндотелиальной системы. Целью настоящего исследования стало изучение профилактического действия бета-фенильных производных глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот на мозговой кровоток, эндотелий-зависимую вазодилатацию церебральных

сосудов и количество циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов у животных после необратимой окклюзии общих сонных артерий.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 70 крысах-самцах массой 180 – 220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария с соблюдением Правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований, действующих на территории РФ.

Нарушения мозгового кровообращения моделировали путем необратимой окклюзии общих сонных артерий (ОСА) [1]. Животные были распределены на 4 группы: 1-я — ложнооперированные (ЛО), 2-я — контроль-ишемия (негативный контроль — животные с ОСА, получавшие физиологический раствор); 3-я и 4-я группы — животные с ОСА, получавшие внутривенно однократно за 30 мин до операции соответственно фенильное производное глутаминовой кислоты (РГПУ-135) в дозе 26 мг/кг и ГАМК (фенибут) в дозе 25 мг/кг (рисунок). Дозы исследуемых соединений выбраны как наиболее эффективные и сопоставимые на основании собственных результатов исследования [2] и данных литературы [8, 9]. Ввиду высокой



Структурная формула РГПУ-135

¹ Кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей (зав. — член-корр. РАМН И. Н. Тюренков) Волгоградского государственного медицинского университета, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

² Кафедра органической химии (зав. — В. М. Берестовицкая) Российского государственного педагогического университета, 119186, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, 48.

летальности животных на данной модели нарушения мозгового кровообращения количество особей в каждой группе составило 20 (за исключением ложнопереоперированных, численность которой была 10).

Через 72 ч после необратимой окклюзии общих сонных артерий оценивали функциональное состояние эндотелия мозговых сосудов по их реакции на введение ацетилхолина, который является “золотым стандартом” в тестировании эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД). Об эндотелий-независимой вазодилатации (ЭНВД) судили по изменению кровотока после введения нитроглицерина. Регистрацию кровотока осуществляли в проекции средней мозговой артерии с помощью ультразвукового доплерографа Минимакс (СПб, РФ) до и после внутривенного введения ацетилхолина в дозе 0,001 мг/кг (“Acros organics”, США) и нитроглицерина в дозе 0,007 мг/кг (МТХ, Москва). По разнице между ЭЗВД и ЭНВД рассчитывали индекс ЭД по следующей формуле: $ЭД = [1 - ЭЗВД/ЭНВД]$. Данный показатель имеет относительное значение, и чем он ближе к 1, тем, соответственно, выше степень развития ЭД [4].

Дополнительно об ЭД и эндотелиопротекторном действии исследуемых соединений судили по количеству десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК). Данный показатель отражает степень повреждения сосудов и коррелирует с различными показателями дисфункции эндотелия (фактор Виллебранда и др.) [6].

Обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel и BioStat 2008 5.2.5.0. Результаты представлены в виде средней (M) и стандартной ошибки средней ($\pm m$), достоверность показателей в сравниваемых группах оценивали с помощью рангового однофакторного критерия Крускала-Уоллиса, Данна, Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Необратимая окклюзия общих сонных артерий вызывала выраженное нарушение мозгового кровообращения, которое приводило к гибели 25 % животных контрольной группы уже через 6 ч после ОСА, а к концу 3-х суток выжило всего 30 % животных, тогда как в группе ЛО не было зафиксировано ни одного летального случая (табл. 1).

Исследуемые фенильные производные глутаминовой кислоты (РГПУ-135) и гамма-аминомасляной кислоты (фенибут) к концу 3-х суток сопоставимо и достоверно уменьшали гибель крыс после перевязки сонных артерий по сравнению с группой негативного контроля (табл. 1).

Перевязка обеих сонных артерий у крыс приводила к снижению уровня мозгового кровотока. Так, у животных группы негативного контроля через 72 ч после ОСА уровень локального мозгового кровотока был достоверно ниже в 1,83 раза, чем в группе ложнопереоперированных животных (табл. 2). При этом у данной группы наблюдалось менее выраженное увеличение кровотока на введение ацетилхолина в сравнении с

Таблица 1. Влияние исследуемых веществ на выживаемость животных при необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий (ОСА)

Группа животных	Выживаемость животных после ОСА									
	6 ч		12 ч		24 ч		48 ч		72 ч	
	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%
ЛО	10/10	100	10/10	100	10/10	100	10/10	100	10/10	100
Контроль-ишемия	20/15	75	20/14	70	20/12*	60	20/8*	40	20/6*	30
РГПУ-135	20/15	75	20/15	75	20/14	70	20/13 [#]	65	20/13 [#]	65
Фенибут	20/18	90	20/16	80	20/14	70	20/12 [#]	60	20/12 [#]	60

Примечание. n — количество животных в группе; N — количество выживших животных в группе; ЛО — ложнопереоперированные животные; * — различия достоверны по сравнению с ЛО группой ($p < 0,05$); [#] — различия достоверны по сравнению с контрольной группой (негативный контроль) ($p < 0,05$, критерий Фишера).

Таблица 2. ЭЗВД и ЭНВД, индекс эндотелиальной дисфункции, количество циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭК) у животных через 72 ч после окклюзией общих сонных артерий

Группа	МК (у. е.)	Прирост кровотока (в %) на введение		Индекс эндотелиальной дисфункции	Количество ЦЭК ($\cdot 10^3/л$)
		ацетилхолина	нитроглицерина		
ЛО	4,11 ± 0,21	28 ± 2,6	34 ± 2,6	0,151 ± 0,08	2,9 ± 0,6
Контроль-ишемия	2,25 ± 0,24*	6 ± 2,8*	38 ± 2	0,837 ± 0,07*	7,33 ± 0,8*
РГПУ-135	2,93 ± 0,18 [#]	20 ± 1,28 [#]	40 ± 2,3	0,433 ± 0,045 [#]	4,23 ± 0,4 [#]
Фенибут	2,86 ± 0,2	16 ± 2,27 [#]	36 ± 2,1	0,515 ± 0,079	5,33 ± 0,7

Примечание. МК — мозговой кровоток; *, [#] — $p < 0,05$ — различия достоверны соответственно по сравнению с ложнопереоперированными (ЛО) или контрольной группой животных (ранговый однофакторный анализ, критерий Крускала-Уоллиса, Данна).

ложнооперированными животными, тогда как введение нитроглицерина вызывало сопоставимые изменения у животных всех исследуемых групп, что свидетельствует о сохранении у всех крыс независимого от состояния эндотелия и реализуемого при участии гуанилатциклазы миогенного механизма дилатации сосудов. Кроме того, у животных группы негативного контроля количество ЦЭК в системном кровотоке оказалось в 2,5 раза выше, чем в группе ЛО (табл. 2), что также указывает на усиление десквамационных процессов и выраженность повреждения эндотелия.

У животных, профилактически однократно получавших РГПУ-135 и фенибут, мозговой кровотока был, соответственно, на 30,2 и 27,1 % выше, чем у животных группы негативного контроля. При оценке ЭЗВД путем введения ацетилхолина животным установлено, что прирост кровотока у крыс, получавших исследуемые соединения, был более выраженным по сравнению с аналогичным у контрольных животных. Реакция на введение нитроглицерина, как было указано выше, была сопоставима и статистически значимо не отличалась ни от группы ложнооперированных животных, ни от группы негативного контроля. Количество ЦЭК и индекс ЭД у животных, получавших РГПУ-135, были наименьшими и статистически значимо отличались от аналогичных показателей контрольной группы. У крыс, получавших фенибут, данные показатели были меньше, чем в группе негативного контроля, но различия не достигали статистической значимости (табл. 2).

Таким образом, моделирование церебральной ишемии у крыс путем ОСА приводит к значительному снижению уровня мозгового кровотока и выраженному повреждению эндотелия, о чем свидетельствует увеличение количества десквамированных эндотелиоцитов и снижение эндотелийзависимой вазодилатации. Все это в совокупности приводит к нарушению нормального функционирования эндотелиальной системы и, как следствие, к еще более значительным нарушениям мозгового кровообращения.

Превентивное однократное введение РГПУ-135 в несколько большей степени, чем фенибут, способствовало сохранению уровня мозгового кровотока на более

высоком уровне и уменьшало выраженность ЭД. Учитывая, как было указано выше, что соединение РГПУ-135 обладает церебропротекторной активностью, а также результаты данного исследования, можно предположить, что церебропротекторная активность фенильного производного глутаминовой кислоты связана, в том числе, и с его эндотелиопозитивным действием.

ВЫВОДЫ

1. Двусторонняя окклюзия общих сонных артерий приводит к существенному снижению мозгового кровотока и гибели значительной части животных. У выживших животных мозговой кровотока ниже, чем у ложнооперированных и в 4,5 раза меньше эндотелий-зависимой вазодилатации, а количество десквамированных эндотелиоцитов и коэффициент эндотелия значительно выше.

2. Однократное превентивное введение РГПУ-135 улучшает мозговое кровообращение, уменьшает выраженность нарушений эндотелиальной дисфункции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. В. Волотова, Д. В. Куркин, И. Н. Тюренков, А. А. Литвинов, *Вестн. Волгоград. гос. мед. унив.*, № 2, 72 – 75 (2011).
2. Е. В. Волотова, Н. В. Мазина, Д. В. Куркин, И. Н. Тюренков, *Вестн. Волгоград. гос. мед. унив.*, № 1, 40 – 42 (2013).
3. Е. Н. Воробьева, Г. И. Шумахер, М. А. Хорева, И. В. Осипова, *Рос. кардиол. журн.*, № 2, 84 – 91 (2010).
4. А. В. Воронков, И. Н. Тюренков, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 10, 23 – 25 (2011).
5. А. Г. Кочетов, В. И. Скворцова, А. Ю. Бочина и др., *Журн. неврол. и психиатр. Инсульт*, № 4, 12 – 17 (2011).
6. Н. Н. Петрищев, О. А. Беркович, Т. Д. Власов и др., *Клин. и лаб. диагностика*, № 1, 50 – 52 (2001).
7. М. Путилина, *Врач*, № 7, 24 – 28 (2012).
8. И. Н. Тюренков, М. Н. Багметов, В. В. Епишина и др., *Биомедицина*, 1(4), 117 – 118 (2006).
9. И. Н. Тюренков, М. Н. Багметов, В. В. Епишина и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 19 – 22 (2006).
10. И. Н. Тюренков, А. В. Воронков, А. А. Слиецанс, Е. В. Волотова, *Вестн. РАМН*, № 7, 50 – 57 (2012).
11. D. Versari, E. Daghini, A. Viridis, et al., *Diabetes Care*, № 32, 314 – 321 (2009).

Поступила 09.04.13

COMPARATIVE ANALYSIS OF ACTION OF BETA-PHENYL DERIVATIVES OF GLUTAMIC AND GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID ON CEREBRAL BLOOD FLOW AND CEREBROVASCULAR ENDOTHELIUM AFTER IRREVERSIBLE OCCLUSION OF THE COMMON CAROTID ARTERY

E. V. Volotova¹, D. V. Kurkin¹, N. V. Mazina¹, V. M. Berestovitskaya², and O. S. Vasilyeva²

¹ Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, 400131, Russia

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

A comparative analysis of the effect of phenyl derivatives of glutamic (RGPU-135) and gamma-aminobutyric acid (Phenibut) on cerebral blood flow, vasodilatory endothelial function and the number of circulating endothelial cells desquamated in animals after irreversible occlusion of the common carotid arteries. It was found that animals treated prophylactically by RGPU-135, after occlusion of the common carotid arteries have higher cerebral blood flow and lower the severity of endothelial dysfunction than in animals treated with Phenibut.

Keywords: endothelium; endothelial dysfunction; desquamated endothelial cells; brain circulation; ischemia; brain; GABA; glutamic acid; rats