

УДК 615:547.466.3:618.3-008.6-092.4

## ИЗМЕНЕНИЕ ОКСИДАНТНОГО И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У ПОТОМСТВА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК

*Е.А. Музыка, М.В. Кустова, К.В. Суворин, В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков*

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

Изучено влияние курсового внутривентрикулярного введения производных гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) сукцикарда 22 мг/кг, салифена 7,5 мг/кг, фенибута 25 мг/кг и препарата сравнения пантогама 50 мг на концентрацию малонового диальдегида (МДА) и активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) у потомства в возрасте 8, 14 и 20 мес., рожденного крысами с экспериментальной преэклампсией (ЭП). Установлено, что при ЭП снижается активность антиоксидантных ферментов и увеличивается количество продуктов перекисного окисления липидов у потомства от самок с ЭП в отдаленные периоды онтогенеза (8, 14 и 20 мес.). Введение с 40-го по 70-й день жизни потомству крыс с ЭП производных ГАМК в возрасте 8 мес. способствовало уменьшению уровня МДА у животных, получавших салифен, в 14 мес. – у получавших сукцикард и препарат сравнения пантогам, в 20 мес. – пантогам. Кроме того, у крыс, которым вводили сукцикард, салифен, фенибут и пантогам, увеличивалась активность СОД в возрасте 14 мес., у получавших пантогам – в 8 и 20 мес. Увеличение активности каталазы наблюдалось в возрасте 8 мес. у потомства, которому вводили фенибут и салифен, в 14 мес. – у получавшего сукцикард.

*Ключевые слова:* экспериментальная преэклампсия, потомство, производные ГАМК, оксидантный и антиоксидантный статус.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-98-101

## CHANGE OF THE OXIDANT AND ANTIOXIDANT STATUS IN THE OFFSPRING FROM RATS WITH EXPERIMENTAL PREECLAMPSIA UNDER THE EFFECT OF GABA DERIVATIVES

*E.A. Muzyko, M.V. Kustova, K.V. Suvorin, V.N. Perfilova, I.N. Tyurenkov*

*FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation*

The effect of course intragastric administration of gamma-aminobutyric acid derivatives (GABA) such as succinylcholine 22 mg/kg, salifen 7.5 mg/kg, phenibut 25 mg/kg and comparison of drug pantogam 50 mg on the concentration of malondialdehyde (MDA) and the activity of catalase and superoxide dismutase (SOD) in the plasma of offspring at the age of 8, 14 and 20 months, who was born from rats with experimental preeclampsia (EP), was studied. EP has decreased the activity of antioxidant enzymes and increased concentration of lipid peroxidation products in offspring from females with EP in long periods of ontogenesis (8, 14 and 20 months). The GABA derivatives administration from 40 to 70 days of life to the progeny from rats with EP has decreased MDA level in animals at the age of 8 months treated with salifen, in 14 months – in those receiving succinylcholine and comparison of drug pantogam, in 20 months – pantogam. In addition, the activity of SOD has increased at the age of 14 months in rats, which were treated by succinylcholine, salifen, phenibut, and pantogam, and at 8 and 20 months in those receiving pantogam. An increase in catalase activity was observed at the age of 8 months in the offspring who were treated with phenibut and salifen, at 14 months – who received succinylcholine.

*Key words:* experimental preeclampsia, offspring, GABA derivatives, oxidant and antioxidant status.

Преэклампсия (ПЭ) является специфичным для беременности мультисистемным патологическим состоянием, которое сопряжено с высоким риском возникновения неблагоприятных последствий для матери и ребенка на разных этапах онтогенеза.

Ухудшение маточно-плацентарного кровотока при ПЭ, вызванное абнормальной плацентацией, нарушением функции эндотелия сосудов, а также преобладающим действием прокоагулянтных факторов и вазоконстрикторов, ведет к уменьшению передачи кислорода и питательных веществ к плоду [7]. Гипоксия провоцирует активацию свободнорадикальных процессов с одновременным срывом антиоксидантной системы защиты (АОС), что сопровождается повреждением клеток различных органов и тканей, а уровень продуктов

перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов АОС в крови может отражать степень этого повреждения.

В экспериментальном исследовании, проведенном Al-Hasan Y.M. и соавт. [4], у потомства морских свинок с хронической внутриутробной гипоксией была повышена концентрация малонового диальдегида (МДА) в печени, сердце и легких. Было показано, что у недоношенных новорожденных, подвергшихся действию гипоксии в пренатальном периоде, в сыворотке крови увеличен уровень МДА, а также снижена суммарная антиокислительная активность по сравнению со здоровыми детьми [1]. В зрелом возрасте это может проявляться в повышенном риске формирования патологий нервной, сердечно-сосудистой, эндокринной, дыхательной и других систем [6, 8].

Поэтому актуален поиск веществ для превентивной фармакологической коррекции изменений оксидантного и антиоксидантного статуса, возникающего у детей, рожденных матерями с ПЭ. Известно, что производные гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) обладают антигипоксическим и антиоксидантным эффектами, а также оказывают эндотелио-, нейро- и кардиопротекторное действия [3, 9], что предполагает возможность их использования для лечения подобных осложнений ПЭ у детей.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка влияния курсового введения в адолесцентном периоде (с 40-го по 70-й день жизни) производных ГАМК сукцикарда, салифена, фенибута и препарата сравнения пантогама на оксидантный и антиоксидантный статус потомства в возрасте 8, 14 и 20 мес., рожденного крысами с экспериментальной преэклампсией (ЭП).

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было выполнено на потомстве ( $n = 84$ ), рожденном белыми беспородными крысами-самками с физиологической беременностью и ЭП, которую моделировали заменой питьевой воды на 1,8%-й раствор NaCl с 1-го по 21-й день беременности [9]. Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных Рапполово» (Ленинградская область) и содержались в условиях вивария ВолгГМУ. Содержание и уход за ними осуществляли согласно рекомендациям национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р-33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Международных рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (The European Convention, 1986). Исследование было выполнено в соответствии с требованиями приказа МЗ РФ №199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Протокол экспериментального исследования был одобрен региональным независимым Этическим комитетом (ГУ Волгоградский медицинский научный центр) № 2044-2017 от 25 декабря 2017 г.

На 39-й день после рождения потомство отсаживали от самок и распределяли по группам таким образом, чтобы в каждой оказалось по 7 животных: 1, 2 – позитивный контроль – самцы и самки от крыс без ЭП, получавшие дистиллированную воду; 3, 4 – негативный контроль – самцы и самки от крыс с ЭП, получавшие дистиллированную воду; 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 – самцы и самки от крыс с ЭП, получавшие производные ГАМК сукцикард в дозе 22 мг/кг, салифен – 7,5 мг/кг, фенибут – 25 мг/кг и препарат сравнения пантогам – 50 мг соответственно. Исследуемые производные ГАМК, препарат сравнения и дистиллированную воду вводили

внутрижелудочно с помощью зонда один раз в сутки с 40-й по 70-й день жизни в одно и то же время.

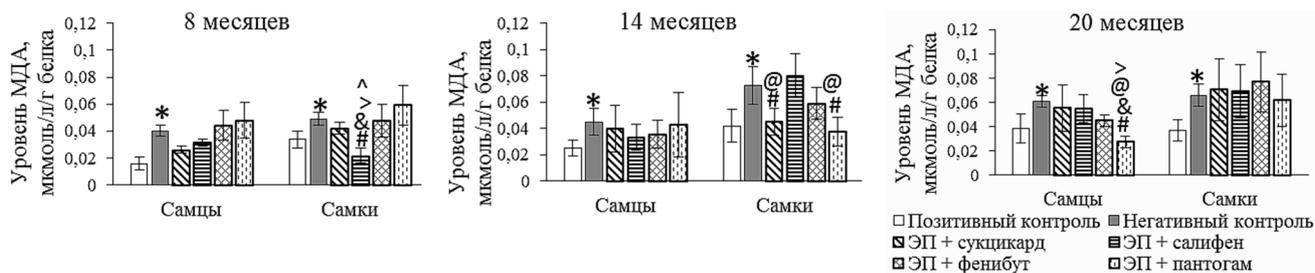
У потомства в возрасте 8, 14 и 20 мес. в плазме крови определяли концентрацию МДА, который является маркером ПОЛ и окислительного стресса, на основе его реакции с тиобарбитуровой кислотой (Стальная И.Д. в модификации Андреевой Л.И., 1988), а также активность ферментов антиоксидантной системы – супероксиддисмутазы (СОД) по степени торможения реакции окисления кверцетина (Костюк В.А., 1990) и каталазы по методике, основанной на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс (Королюк М.А., 1988). Для измерения концентрации белка использовали набор «КлиниТест-ОБ» (Эко-сервис, Россия). Оптическую плотность образцов определяли на спектрофотометре ПЭ-5400В (Экрос, Россия).

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли в пакете программ STATISTICA v.12.0 (StatSoft Inc., США) по *t*-критерию Стьюдента для парных сравнений и критерию Ньюмена – Кейлса для множественных, с предварительной проверкой выборок на нормальность распределения по критерию Шапиро – Уилка. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было установлено, что ЭП оказывает негативное влияние на АОС потомства, рожденного крысами с ЭП, с одновременной активацией ПОЛ. В возрасте 8 месяцев у самцов и самок от крыс с ЭП наблюдалось увеличение концентрации МДА в плазме крови в 2,6 и 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно, в возрасте 14 мес. – в 1,8 и 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), в 20 мес. – в 1,6 и 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с потомством здоровых самок (рис. 1). У 8-месячных самцов и самок от крыс с ЭП активность СОД была ниже в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ), чем у потомства группы позитивного контроля, в возрасте 14 мес. – в 1,7 и 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), в 20 мес. – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). В возрасте 8 и 14 мес. у самцов группы негативного контроля активность каталазы была ниже в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с потомством здоровых самок, в возрасте 20 мес. – в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ). У самок, рожденных крысами с ЭП, имела тенденция к уменьшению активности каталазы, однако достоверные отличия были выявлены только в возрасте 14 мес. (ниже в 1,2 раза,  $p < 0,05$ ) (рис. 3).

При измерении концентрации МДА у 8-месячного потомства, которому в пубертатном периоде вводили производные ГАМК и препарат сравнения пантогам, статистически значимое снижение данного показателя в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) было выявлено у самок, получавших салифен, а в возрасте 14 мес. – в 1,6 и 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) у самок, получавших сукцикард и пантогам. В возрасте 20 мес. достоверные отличия от группы негативного контроля были выявлены у самцов, получавших пантогам (уровень МДА был ниже в 2,2 раза,  $p < 0,05$ ) (рис. 1).



Здесь и далее: \*по критерию Стьюдента по сравнению с группой позитивного контроля; # по критерию Ньюмена – Кейлса по сравнению с группой негативного контроля, & по сравнению с группой, получавшей сукцикард; @ по сравнению с группой, получавшей салифен; > по сравнению с группой, получавшей фенибут; ^ по сравнению с группой, получавшей пантогам.  $P < 0,05$ .

Рис. 1. Влияние производных ГАМК на уровень малонового диальдегида (МДА) в плазме крови потомства в возрасте 8, 14 и 20 мес. от крыс с экспериментальной преэклампсией (ЭП) ( $M \pm m$ )

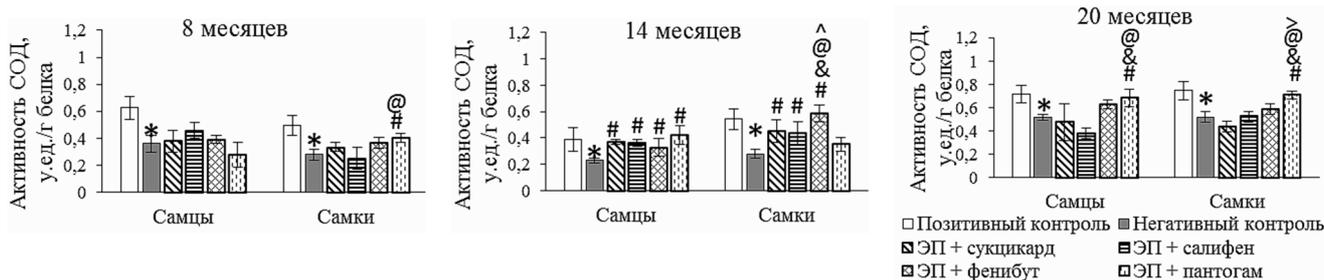


Рис. 2. Влияние производных ГАМК на активность супероксиддисмутазы (СОД) в плазме крови потомства в возрасте 8, 14 и 20 мес. от крыс с экспериментальной преэклампсией (ЭП) ( $M \pm m$ )

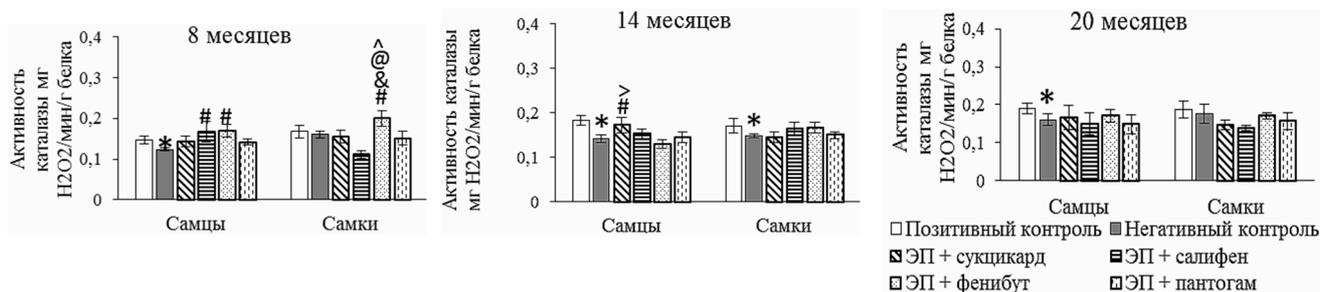


Рис. 3. Влияние производных ГАМК на активность каталазы в плазме крови потомства в возрасте 8, 14 и 20 мес. от крыс с экспериментальной преэклампсией (ЭП) ( $M \pm m$ )

У животных, получавших производные ГАМК и препарат сравнения пантогам, имелась тенденция к увеличению активности СОД в возрасте 8 мес. по сравнению с потомством от крыс с ЭП, однако достоверные отличия были выявлены у самок, которым вводили пантогам (больше в 1,4 раза,  $p < 0,05$ ). У 14-месячных самцов и самок, получавших сукцикард, активность СОД была выше в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно, салифен – в 1,6 и 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), фенибут – в 1,4 и 2,1 раза ( $p < 0,05$ ), пантогам – в 1,8 ( $p < 0,05$ ) и 1,3 раза (рис. 2).

В возрасте 20 мес. у самцов и самок, получавших пантогам, данный показатель был выше в 1,3 и 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой негативного контроля.

Активность каталазы у 8-месячных самцов и самок, которым вводили фенибут, увеличивалась в 1,4 и 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с группой негативного контроля; у самцов, получавших салифен – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). У 14-месячных самцов, которым вводили сукцикард,

активность каталазы также увеличивалась (в 1,2 раза,  $p < 0,05$ ). В возрасте 20 мес. среди животных, получавших производные ГАМК и препарат сравнения пантогам, достоверных отличий от группы негативного контроля выявлено не было (рис. 3).

Таким образом, ЭП оказывает негативное влияние на АОС и увеличивает количество продуктов ПОЛ у потомства в возрасте 8, 14 и 20 мес. Это можно объяснить хронической гипоксией, характерной для данного осложнения беременности. Нехватка кислорода и питательных веществ провоцируют переход плода на анаэробный метаболизм, который приводит к повышенному образованию лактата.

Внутриклеточный ацидоз сопровождается накоплением свободных жирных кислот и кальция, что способствует повреждению мембран митохондрий. Также увеличение продукции молочной кислоты ведет к разрушению лизосом и выходу аутолитических ферментов в цитоплазму, что создает условия для генерации активных форм кислорода и истощения АОС.

Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований. Так, в сыворотке крови недоношенных новорожденных с перинатальной гипоксией концентрация МДА была выше [1], а содержание факторов защиты от оксидативного стресса (СОД, глутатионпероксидазы, бета-каротина, рибофлавина и др.) ниже [2] по сравнению со здоровыми детьми. В экспериментальном исследовании Chen X. и соавт. [5] у 20-месячных крыс, которые подверглись хронической пренатальной гипоксии, была понижена активность СОД и каталазы в плазме крови, а экспрессия мРНК СОД3 была существенно ниже в эндотелиальных клетках брыжеечных артерий по сравнению с потомством здоровых самок.

Курсовое введение с 40-й по 70-й день жизни производного ГАМК сукцикарда потомству крыс с ЭП способствовало уменьшению уровня МДА в плазме крови, а также увеличению активности каталазы и СОД в возрасте 14 мес. У крыс, получавших салифен, количество продуктов ПОЛ было ниже, а активность каталазы – выше в возрасте 8 мес. по сравнению с группой негативного контроля, активность СОД была выше у 14-месячного потомства. У потомства, которому вводили фенибут, активность СОД увеличивалась в возрасте 14 мес., активность каталазы – в 8 мес. Введение в пубертатном периоде потомству препарата сравнения пантогама приводило к уменьшению концентрации МДА в плазме крови в возрасте 14 и 20 месяцев, а также к увеличению активности СОД в 8, 14 и 20 месяцев.

Положительное действие производных ГАМК можно объяснить их антигипоксическим, антиоксидантным, эндотелио-, нейро- и кардиопротекторным эффектами. Кроме того, производные ГАМК очевидно могут устранять энергодефицит в условиях нехватки кислорода, а также способствовать созданию дополнительного пула окисленного НАД<sup>+</sup> для превращения лактата в пируват и снижению токсического действия первого на ферментные системы клеток [3, 9].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ЭП оказывает негативное действие на АОС и увеличивает интенсивность ПОЛ у потомства, рожденного крысами с ЭП, в отдаленные периоды онтогенеза (8, 14 и 20 мес.), что проявляется в большей концентрации МДА в плазме крови по сравнению с животными от здоровых самок, а также в снижении активности антиоксидантных ферментов (каталазы и СОД). Введение с 40-го по 70-й день жизни потомству крыс с ЭП производных ГАМК в возрасте 8 мес. способствовало уменьшению уровня МДА у животных, получавших салифен, в 14 мес. – у получавших сукцикард и препарат сравнения пантогам, в 20 мес. – пантогам. Кроме того, у крыс, которым

вводили сукцикард, салифен, фенибут и пантогам, увеличивалась активность СОД в возрасте 14 мес., у получавших пантогам – в 8 и 20 мес. Увеличение активности каталазы наблюдалось в возрасте 8 мес. у потомства, которому вводили фенибут и салифен, в 14 мес. – у получавшего сукцикард.

## ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Лоскутова Е.В., Воронцова И.А., Вахитов Х.М. и др. / Loskutova E.V., Voroncova I.A., Vahitov H.M., et al. Состояние системы липопероксидации у недоношенных новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию / *Sostoyaniye sistemy lipoperoksidacii u nedonoshennykh novorozhhdennykh, perenesshih perinatal'nyuyu gipoksiyu* [The condition of the lipoperoxidation system in premature newborns after perinatal hypoxia] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии / Rossijskiy vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian Bulletin of perinatology and pediatrics]. – 2018. – № 5 (63). – С. 135–138.
2. Суханова Ю.А., Себенцова Е.А., Левицкая Н.Г. / Suhanova YU. A., Sebenscova E. A., Levickaya N. G. Острые и отставленные эффекты перинатального гипоксического повреждения мозга у детей и в модельных экспериментах на грызунах / *Ostrye i otstavlennyye efekty perinatal'nogo gipoksicheskogo povrezhdeniya mozga u detej i v model'nykh eksperimental'nykh na gryzunah* [The acute and delayed effects of perinatal hypoxic brain damage in children and in model experiments with rodents] // *Нейрохимия / Neirohimiya* [Neurochemical journal]. – 2016. – № 4 (33). – С. 276–292.
3. Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Резникова Л.Б. и др. / Tyurenkov I.N., Perfilova V.N., Reznikova L.B., et al. Производные ГАМК цитрокард и салифен уменьшают тяжесть течения экспериментального гестоза / *Proizvodnyye GAMK citrokard i salifen umen'shayut tyazhest' techeniya eksperimental'nogo gestoza* [GABA derivatives citrocard and salifen reduce the intensity of experimental gestosis] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины / Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny* [Bulletin of experimental biology and medicine]. – 2014. – № 1 (157). – С. 49–52.
4. Al-Hasan Y.M., Evans L.C., Pinkas G.A., et al. Chronic hypoxia impairs cytochrome oxidase activity via oxidative stress in selected fetal Guinea pig organs // *Reproductive sciences*. – 2013. – № 3 (20). – P. 299–307.
5. Chen X., Qi L., Fan X., et al. Prenatal hypoxia affected endothelium-dependent vasodilation in mesenteric arteries of aged offspring via increased oxidative stress // *Hypertension research*. – 2019. – № 6 (42). – P. 863–875.
6. Lu H.Q., Hu R. Lasting effects of intrauterine exposure to preeclampsia on offspring and the underlying mechanism // *American journal of perinatology reports*. – 2019. – № 9 (3). – P. 275–291.
7. Phipps E.A., Thadhani R., Benzing T., Karumanchi S.A. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies // *Nature reviews. Nephrology*. – 2019. – № 5 (15). – P. 275–289.
8. Pinheiro T.V., Brunetto S., Ramos J.G., Bernardi J.R., Goldani M.Z. Hypertensive disorders during pregnancy and health outcomes in the offspring: a systematic review // *Journal of developmental origins of health and disease*. – 2016. – № 7 (4). – P. 391–407.
9. Tyurenkov I.N., Popova T.A., Perfilova V.N., Zhakupova G.A., Ostrovsky O.V., Lebedeva S.A. Effect of RSPU-189 compound and sulodexide on placental mitochondrial respiration in female rats with experimental preeclampsia // *SOJ Gynecology, obstetrics and women's health*. – 2016. – № 2 (2). – P. 7.

## Контактная информация

**Музыка Елена Андреевна** – аспирант кафедры фармакологии и фармации ИНМФО, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: muzyko.elena@mail.ru