

**ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ОКСИПИРИДИНА
ПРИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ
В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ**

**А.В. Юракова¹, С.Я. Скачилова², Л.М. Даниленко¹, М.А. Затолокина³,
Е.С. Затолокина³, А.В. Гуреева³**

¹ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»;

²АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ»;

³ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Патогенез преэклампсии полиэтиологичен и не до конца изучен. Одной из ведущих теорий патогенеза является теория оксидативного стресса. Соответственно, для профилактики и лечения преэклампсии перспективным является поиск новых лекарственных средств, обладающих антиоксидантным и антигипоксическим действием. Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 150 белых крысах-самках линии Wistar массой 250–300 г. Исследуемые препараты вводились в течение 7 дней с 14-х по 21-е сутки беременности. На 21-е сутки беременности проводили функциональные пробы. Результаты. Введение животным производных 3-оксипиридина приводит к выраженной коррекции патологических изменений – отмечалось достоверное снижение систолического и диастолического давления соответственно, улучшение микроциркуляции в плаценте, восстановление NO-синтезирующей функции эндотелия, уменьшении протеинурии. Выводы. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о перспективности применения производных 3-оксипиридина для коррекции функциональных изменений при преэклампсии.

Ключевые слова: преэклампсия, 3-оксипиридин, мексидол, эндотелиальная дисфункция, крысы, протеинурия, микроциркуляция.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-133-136

**STUDY OF EFFICIENCY OF 3-OXYPIRIDINE DERIVATIVES IN CORRECTION
OF DISORDERS IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL PREECLAMPSIA**

**A.V. Yurakova¹, S.Ya. Skachilova², L.M. Danilenko¹, M.A. Zatolokina³,
E.S. Zatolokina³, A.V. Gureeva³**

¹FSAEI HE «Belgorod State National Research University»;

²JSC «All-Union Scientific Center for the Safety of Biologically Active Substances»;

³FSBEI HE «Kursk State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation

The pathogenesis of preeclampsia is polyetiologic and not fully understood. One of the leading theories of pathogenesis is the theory of oxidative stress. Accordingly, the search for new drugs with antioxidant and antihypoxic effects is promising for the prevention and treatment of preeclampsia. Methods. The experiment was performed on 140 female white rats of Wistar strain weighing 250–300 g. The studied substances were administered within 7 days from 14 to 21 days of pregnancy. On the 21st day of pregnancy, functional tests were conducted. Results. Administration of 3-oxypyridine derivatives in animals causes the expressed correction of pathological changes in experimental ADMA-like preeclampsia. There was a significant rise in systolic and diastolic blood pressure, respectively, the improvement of microcirculation in the placenta, restoration of endothelium NO-synthesis function, proteinuria reduction. Conclusion. The results of this study prove the future outlook of the use of 3-oxypyridine derivatives for correction of functional changes in preeclampsia and substantiate the reasonability of further research in this direction.

Key words: preeclampsia, 3-oxypyridine, mexidol, endothelial dysfunction, rats, proteinuria, microcirculation.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследовать эффективность использования производных 3-оксипиридина при коррекции функциональных нарушений, возникающих при L-NAME индуцированной преэклампсии в эксперименте.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование выполнено на 140 белых крысах-самках линии Wistar массой 250–300 г. Беременные крысы были разделены на 7 групп: 1-я группа – интактные, 2-я группа – контроль (введение L-NAME 25 мг/кг), 3-я группа – с введением L-NAME и препарата сравнения

метилдопы (2 x 0,043 г/кг), 4-я группа – с введением L-NAME и мексидола (2 x 75 мг/кг), 5-я группа – с введением L-NAME и ЛХТ-21-16 (52 мг/кг), 6-я группа – с введением L-NAME и ЛХТ-21-16 (260 мг/кг), 7-я группа – с введением L-NAME и комбинации ЛХТ-21-16 (260 мг/кг) + метилдопа (2 x 0,043 г/кг). ADMA-подобный агент – неселективный блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин-метилловый эфир (L-NAME) вводили внутривенно в дозе 25 мг/кг/сут. в течение семи дней (14–20-е сут. беременности) [1, 2]. Введение метилдопы осуществляли дважды в день в дозировке 2 x 0,043 г/кг/сут. с 14 по 21 сут. беременности внутривенно. Препарат сравнения Мексидол

также вводили дважды в день в дозировке 75 мг/кг внутримышечно с 14-х по 21-е сутки беременности. ЛХТ-21-16 (3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинат) (52,0 и 260 мг/кг) вводили внутрибрюшинно однократно за 30 мин до L-NAME в течение 7 сут. с 14-х по 21-е сут. беременности [5, 6]. На 21-е сут. беременности лабораторное животное наркотизировали путем внутрибрюшинной инъекции хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг массы тела, после чего проводились функциональные тесты. Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных оценивали по соотношению показателей эндотелийзависимой вазодилатации и эндотелий-независимой вазодилатации с последующим расчетом коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) [7, 8]. Уровень метаболитов NO (то есть суммарную концентрацию нитратов и нитритов, NOx) определяли колориметрическим методом по развитию окраски в реакции диазотирования нитритом сульфаниламида, входящим в состав реактива Грисса. Для получения данных о состоянии микроциркуляции в плаценте на 21-е сутки беременности под наркозом в 4 точках измеряли уровень микроциркуляции на расстоянии 1 мм от края плацентарного диска. Значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕд). Сбор мочи у интактных и опытных групп крыс проводился с использованием специальных метаболитических клеток. Животное помещалось в клетку на 12 часов с обеспечением свободного доступа к воде. В основе метода Брандберга – Роберта – Стольникова лежит кольцевая проба Геллера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После введения L-NAME на 21-е сутки у беременных крыс наблюдалось статистически значимое ($p < 0,05$) повышение артериального давления (АД): систолическое АД (САД) составляло $(194,9 \pm 8,26)$ мм рт. ст., диастолическое АД (ДАД) $(141,4 \pm 3,53)$ мм рт. ст., в то время как у интактных животных показатели систолического и диастолического давления составляли $(132,3 \pm 3,46)$ и $(92,40 \pm 3,87)$ мм рт. ст. соответственно. В группе животных с препаратом сравнения – мексидолом – отмечалось снижение систолического и диастолического давления до $(177,0 \pm 4,02)$ и $(133,2 \pm 4,63)$ мм рт. ст. соответственно, что несущественно отличалось от группы контроля. Данные САД и ДАД в группе животных, получавших препарат метилдопы, входящий в стандарт терапии гипертензивных состояний у беременных, составили $(148,9 \pm 4,42)$ и $(113,6 \pm 3,47)$ мм рт. ст., что значимо ($p < 0,05$) отличается от показателей контрольной группы животных с моделируемой патологией, однако эти цифры не достигают целевых в группе интактных животных. Введение ЛХТ-21-16 также приводило к достоверному ($p < 0,05$) снижению показателей САД до $(168,4 \pm 2,8)$ мм рт. ст. (в дозировке 52 мг/кг)

и $(158,3 \pm 3,4)$ мм рт. ст. (260 мг/кг). Для диастолического АД показатели после введения ЛХТ-21-16 составили $(127,9 \pm 5,8)$ мм рт. ст. и $(116,3 \pm 4,7)$ мм рт. ст. соответственно. Видно, что гипотензивный эффект в большей дозе исследуемого соединения приближается к таковому в группе с введением метилдопы. Комбинация препаратов ЛХТ-21-16 (260 мг/кг) и метилдопы показали наилучшие результаты среди исследуемых препаратов – показатели САД и ДАД составили $(142,1 \pm 4,2)$ и $(98,5 \pm 5,6)$ мм рт. ст., что значимо не отличается от значений в группе интактных животных (табл. 1).

Таблица 1

Влияние производных 3-оксипиридина на АД, КЭД и микроциркуляцию в плаценте при ADMA-подобной преэклампсии

Группа	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	КЭД, усл. ед.	Микроциркуляция, ПЕд.
Интактные	$132,30 \pm 3,46^y$	$92,40 \pm 3,87^y$	$1,20 \pm 0,07^y$	$465,90 \pm 28,79^y$
L-NAME	$194,90 \pm 8,26^*$	$141,40 \pm 3,53^*$	$2,93 \pm 0,25^*$	$219,80 \pm 7,79^*$
Метилдопа (2 x 0,043 г/кг)	$148,90 \pm 4,42^{*y}$	$113,60 \pm 3,47^{*y}$	$2,28 \pm 0,16^{*y}$	$296,90 \pm 15,36^{*y}$
Мексидол	$177,00 \pm 4,02^*$	$133,20 \pm 4,63^*$	$2,31 \pm 0,12^{*y}$	$273,80 \pm 9,67^{*y}$
ЛХТ-21-16 (52 мг/кг)	$168,4 \pm 2,8^y$	$127,9 \pm 5,8^y$	$2,2 \pm 0,2^y$	$309,30 \pm 7,05^y$
ЛХТ-21-16 (260 мг/кг)	$158,3 \pm 3,4^y$	$116,3 \pm 4,7^y$	$1,8 \pm 0,2^y$	$361,20 \pm 9,29^y$
ЛХТ-21-16 (260 мг/кг + метилдопа)	$142,1 \pm 4,2^y$	$98,5 \pm 5,6^y$	$1,5 \pm 0,1^y$	$419,30 \pm 8,26^y$

* $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; $^y p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Введение L-NAME беременным крысам приводило к нарушению регуляторных механизмов сосудистого тонуса, о чем свидетельствует повышение КЭД с $1,20 \pm 0,07$ до $2,93 \pm 0,25$. Введение мексидола и метилдопы значимо снижали КЭД – до $2,31 \pm 0,12$ и $2,28 \pm 0,16$ соответственно, однако эти значения не достигали целевых. У групп животных с введением исследуемого производного 3-оксипиридина в дозировках 52 и 260 мг/кг также отмечено существенное снижение КЭД до $2,21 \pm 0,17$ и $1,82 \pm 0,24$ соответственно. Курсовое введение комбинации ЛХТ-21-16 (260 мг/кг) + метилдопа беременным животным с ADMA-подобной преэклампсией снижало КЭД до $1,47 \pm 0,15$, что близко к значениям интактной группы животных и свидетельствует о выраженном улучшении функции эндотелия. У животных с ADMA-подобной преэклампсией наблюдалось снижение микроциркуляции с $(465,9 \pm 28,79)$ до $(219,8 \pm 7,79)$ ПЕд. Введение соединений ЛХТ-21-16 в исследуемых дозах восстанавливало

микроциркуляцию до ($309,3 \pm 7,05$) и ($361,2 \pm 9,29$) ПЕд соответственно меньшей и большей дозировкам. Эти значения превосходят результаты коррекции микроциркуляции метилдопой и мексидолом, для которых эти значения составили ($296,9 \pm 15,36$) и ($273,8 \pm 9,67$) ПЕд. Однако наилучшие результаты коррекции микроциркуляции получены в группе животных с комбинированным применением большей дозировки ЛХТ-21-16 и метилдопы – после курсового введения препаратов значения микроциркуляции составили ($419,3 \pm 8,26$) ПЕд.

Исследование NO-синтезирующей функции эндотелия проводилось на основании определения конечных метаболитов оксида азота (NOx) в плазме крови. При моделировании преэклампсии их содержание снижалось с ($2,31 \pm 0,04$) до ($1,29 \pm 0,02$) мкмоль/дл (табл. 2).

Таблица 2

Влияние ЛХТ 21-16 на уровень NO, протеинурию и объем мочи при ADMA-подобной преэклампсии

Группа	Уровень NO, мкмоль/дл	Объем мочи, мл/1000 г	Протеинурия, г/л
Интактные	$2,31 \pm 0,04^y$	$61,30 \pm 0,67$	$0,39 \pm 0,14^y$
L-NAME	$1,29 \pm 0,02^*$	$63,40 \pm 1,61$	$2,13 \pm 0,36^*$
Метилдопа (2 x 0,043 г/кг)	$1,50 \pm 0,02^*$	$61,30 \pm 2,12$	$1,13 \pm 0,34^{y*}$
Мексидол	$1,55 \pm 0,02^y$	$57,10 \pm 1,81$	$1,73 \pm 0,35^*$
ЛХТ-21-16 (52 мг/кг)	$1,51 \pm 0,02^*$	$58,40 \pm 1,73$	$1,5 \pm 0,3^*$
ЛХТ-21-16 (260 мг/кг)	$1,67 \pm 0,02^*$	$59,60 \pm 1,77$	$1,06 \pm 0,23^y$
ЛХТ-21-16 (260 мг/кг + метилдопа)	$1,91 \pm 0,02^*$	$62,40 \pm 2,17$	$0,76 \pm 0,12^y$

* $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных;
 $^y p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

У животных, получавших мексидол, количество конечных метаболитов NO значительно увеличилось и составило ($1,55 \pm 0,02$) мкмоль/дл. В группе с использованием метилдопы в монотерапии данный показатель достиг ($1,50 \pm 0,02$) мкмоль/дл, что так же, как и в группе с использованием мексидола, не достигает целевых значений в группе интактных животных. После введения субстанции ЛХТ-21-16 в дозировках 52 и 260 мг/кг ($p < 0,05$) увеличивалось значение содержание нитрит-ионов (NOx) в плазме крови у животных с ADMA-подобной преэклампсией до ($1,51 \pm 0,02$) и ($1,67 \pm 0,02$) мкмоль/дл соответственно. В группе животных с комбинацией препаратом концентрация NOx была максимальной среди всех исследуемых групп и составила ($1,91 \pm 0,02$) мкмоль/дл. При исследовании объема выделенной мочи не выявлено значимых изменений между исследуемыми группами. После введения L-NAME с 14-х по 21-е сутки беременным самкам отмечено значительное повышение белка

в моче с ($0,39 \pm 0,14$) до ($2,13 \pm 0,36$) г/л. В группе с введением мексидола отмечено незначительное уменьшение протеинурии – эти цифры составили ($1,73 \pm 0,35$) г/л. Терапия соединением ЛХТ-21-16 в меньшей дозировке также не показала значимого снижения белка в моче – ($1,5 \pm 0,3$) г/л.

При использовании метилдопы отмечено значительное уменьшение протеинурии до ($1,13 \pm 0,34$) г/л, однако эти цифры не достигали значений группы интактных животных. Наибольшей эффективностью в отношении протеинурии обладает ЛХТ-21-16 (260 мг/кг) – в нашем эксперименте этот показатель составил ($1,06 \pm 0,23$) г/л, что значительно не отличается от группы интактных животных. При комбинированном использовании метилдопы и ЛХТ-21-16 (260 мг/кг) происходило потенцирование эффекта, и уровень протеинурии достигал ($0,76 \pm 0,12$) г/л.

Оксидативный стресс, лежащий в основе формирования эндотелиальной дисфункции, стоит рассматривать как двусторонний процесс, заключающийся в дисбалансе между образованием реактивных форм кислорода (супероксид-анион, гидроксильный радикал, гидроперекисный радикал, перекись водорода) и антиоксидантной защитой клеток эндотелия. ПОЛ вызывает выраженные изменения функций эндотелия сосудов: торможение эндотелийзависимой вазодилатации, увеличение синтеза адгезивных молекул, прилипание и проникновение моноцитов в сосудистую стенку, привлечение провоспалительных белков и клеток, повышение агрегации тромбоцитов и тромбообразования, активности апоптоза и др. Реактивные формы кислорода обладают способностью тормозить экспрессию и снижать активность eNOS, а также связывать и инактивировать NO, уменьшать его содержание в клетке. Сдвиг физиологического равновесия между NO и O₂ в сторону последнего нередко ведет к образованию высоко токсичного пероксинитрита (ONOO⁻), вызывающего повреждение мембран и способствующего развитию воспалительных процессов и других нарушений [3, 4].

Основным предполагаемым механизмом антиоксидантного действия производных 3-оксипиридина является их взаимодействие с образующимися в ходе ПОЛ перокси- (ROO⁻) и алкокси-радикалами (RO⁻) за счет легко подвижного атома водорода фенольной группы в составе молекулы. Связывая свободные радикалы активных форм кислорода, они угнетают процессы ПОЛ, что в наших экспериментах подтверждалось увеличением содержания метаболитов NO в плазме крови, улучшают вазодилатирующую функцию эндотелия и снижают развитие эндотелиальной дисфункции [9, 10].

Результаты проведенных нами экспериментов убедительно свидетельствуют о выраженных дозозависимых положительных эффектах

производных 3-оксипиридина при коррекции функциональных нарушений, возникающих у животных с ADMA-подобной преэклампсией, которые обладают выраженными антиоксидантными и цитопротекторными свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение животным исследуемого производного 3-оксипиридина (в дозировках 52 и 260 мг/кг) приводит к выраженной коррекции патологических изменений при экспериментальной ADMA-подобной преэклампсии с наибольшим эффектом в большей дозе используемого препарата. Отмечалось достоверное снижение САД и ДАД, улучшение микроциркуляции в плаценте, восстановление NO-синтезирующей функции эндотелия. Результаты коррекции функциональных нарушений комбинацией ЛХТ-21-16 (260 мг/кг) и метилдопы превосходят результаты монотерапии. Полученные данные экспериментально обосновывают перспективность использования производных 3-оксипиридина при преэклампсии и актуальность дальнейших исследований в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gureev V.V., Alehin S.A., Pokrovskiy M.V., Dolzhiikov A.A., Korokin M.V., Gudyrev O.S., Kolesnik I.M. Remote ischemic preconditioning correction in ADMA-like gestosis model // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2014. – № 5 (5). – P. 1095–1098.
2. Danilenko L.M., Skachilova S.Ya., Nadezhdin, S.V., et al. Pharmacological screening of substances with cardioprotective effect in the group of 3-oxypyridine derivatives //

Research Results in Pharmacology. – 2018. – Vol. 4, № 2. – P. 125–131.

3. Danilenko L.M., Pokrovskii M.V. 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate: New concept of realization of cardioprotective effect // *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* – 2014. – № 5. – P. 1419–22.

4. Danilenko L.M., Parfenov E.A., Pokrovsky M.V., Gumanova N.G., Metelskaya V.A., Bobrakov K.E., et al. The use of metal complexes with antioxidant properties for pharmacological correction of endothelial dysfunction // *Kuban. Sci. Med. J.* – 2009. – № 5. – P. 20–4.

5. Korokin M.V., Gudyrev O.S., Gureev V.V. Studies to elucidate the effects of furostanol glycosides from *dioscorea deltoidea* cell culture in a rat model of endothelial dysfunction // *Molecules*. – 2020. – № 25 (1). – P. 169.

6. Pokrovskii M.V., Pokrovskaya T.G., Gureev V.V., et al. Correction of endothelial dysfunction by L-arginine under experimental pre-eclampsia conditions // *Экспериментальная и Клиническая Фармакология*. – № 75 (2). – P. 14–16.

7. Pokrovskii M.V., Yurakova A.V., Gureev V.V., et al. Integrated evaluation of the endothelioprotective activity of an innovative peptide simulating the alpha-helix of b-erythropeithin in L-NAME-induced nitrogen oxide deficiency at the late gestation period // *Journal of Critical Reviews*. – 2019. – № 6 (6). – P. 180–184.

8. Severinova O.V., Lokteva T.I., Gureev V.V., et al. The effect of arginase II selective inhibitors on the functional parameters of experimental animals in ADMA-like preeclampsia // *Journal of International Pharmaceutical Research*. – 2019. – № 46 (4). – P. 272–275.

9. Skachilova S.Y., Kesarev O.G., Danilenko L.M., Bystrova N.A., Dolzhiikov A.A., Nikolaev S.B. Pharmacological correction of L-NAME-induced oxide deficiency with derivatives of 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate // *Res. Result.* – 2016. – № 1. – P. 36–41.

10. Smirnov L.D., et al. Effect of a 3-hydroxypyridine derivative membrane modulator on pharmacological activity of some psychotropic drugs // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 1985. – Vol. 99 (5). – P. 537–540.

Контактная информация

Затолюкина Мария Алексеевна – д. м. н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Курский государственный медицинский университет, e-mail: marika1212@mail.ru