Scientific and Practical Journal
PHARMACY & PHARMACOLOGY

RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

УДК 547.466

CC BY

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ГАМК СУКЦИКАРДА НА УГЛЕВОДНЫЙ И ЛИПИДНЫЙ ОБМЕНЫ ПОТОМСТВА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ В БЛИЖАЙШИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА

Е.А. Музыко[1], В.Н. Перфилова[1], А.А. Нестерова[2], К.В. Суворин[1], И.Н. Тюренков[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1
[2] Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11

E-mail: muzyko.elena@mail.ru

Получена 02.12.2019 Принята к печати 08.08.2020

Преэклампсия у матери может служить причиной развития метаболических расстройств у потомства на разных этапах онтогенеза. На сегодняшний день не разработаны способы превентивной фармакологической коррекции нарушений углеводного и липидного обменов, возникающих в разные периоды жизни детей, рожденных от матерей с данным осложнением беременности.

Цель. Изучение влияния курсового перорального введения в пубертатном периоде (с 40 по 70 день жизни) производного гамма-аминомасляной кислоты сукцикарда (22 мг/кг) и препарата сравнения пантогама (50 мг) на показатели углеводного и липидного обменов потомства крыс с экспериментальной преэклампсией в разные периоды онтогенеза.

Материалы и методы. Для определения состояния углеводного и липидного обменов у потомства проводили Пероральный глюкозотолерантный тест в возрасте 40 дней, 3, 6, 12 и 18 месяцев, измеряли уровень гликированного гемоглобина в возрасте 6, 12 и 18 месяцев и определяли концентрации общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности и триглицеридов в возрасте 40 дней, 3, 6, 12 и 18 месяцев.

Результаты. Было выявлено, что у потомства крыс с экспериментальной преэклампсией на ранних (40 дней и 3 месяца) и поздних (6, 12 и 18 месяцев) стадиях онтогенеза наблюдаются нарушения углеводного и липидного обменов. Это проявляется в значительно более высоких по сравнению с потомством здоровых самок приростах уровня глюкозы при проведении Перорального глюкозотолерантного теста, высоком уровне гликированного гемоглобина у самцов, а также повышенной концентрации общего холестерина, триглицеридов и низком уровне холестерина липопротеинов высокой плотности у крыс группы негативного контроля.

Производное гамма-аминомасляной кислоты сукцикард и препарат сравнения пантогам ограничивают негативное влияние экспериментальной преэклампсии на липидный и углеводный обмены потомства на поздних стадиях онтогенеза (6, 12 и 18 месяцев). По эффективности действия сукцикард превышал или был сопоставим с препаратом сравнения пантогамом.

Заключение. Таким образом, негативное влияние экспериментальной преэклампсии на показатели липидного и углеводного обменов потомства проявляется, как на ранних этапах (40 дней и 3 месяца), так и в более отдаленные периоды (6, 12 и 18 месяцев) онтогенеза. Производное гамма-аминомасляной кислоты сукцикард уменьшает отрицательное действие экспериментальной преэклампсии, что позволяет предположить возможность разработки на его основе безопасного и высокоэффективного препарата для превентивной коррекции нарушений углеводного и липидного обменов у детей, родившихся от матерей с преэклампсией.

Ключевые слова: экспериментальная преэклампсия; потомство; производные ГАМК; липидный обмен; углеводный обмен

Список сокращений: АД – артериальное давление; АТФ – аденозинтрифосфат; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; ЗВУР – задержка внутриутробного развития; ОХ – общий холестерин; ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест; ПЭ – преэклампсия; ТГ – триглицериды; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ЭП – экспериментальная преэклампсия.

Для цитирования: Е.А. Музыко, В.Н. Перфилова, А.А. Нестерова, К.В. Суворин, И.Н. Тюренков. Влияние производного ГАМК сукцикарда на углеводный и липидный обмены потомства крыс с экспериментальной преэклампсией в ближайшие и отдаленные периоды онтогенеза. *Фармация и фармакология.* 2020;8(5):325-335. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

© Е.А. Музыко, В.Н. Перфилова, А.А. Нестерова, К.В. Суворин, И.Н. Тюренков, 2020

For citation: E.A. Muzyko, V.N. Perfilova, A.A. Nesterova, K.V. Suvorin, I.N. Tyurenkov. Effect of the gaba derivative succicard on the lipid and carbohydrate metabolism in the offspring of rats with experimental preeclampsia in early and late ontogeny. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(5):325-335. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

EFFECT OF THE GABA DERIVATIVE SUCCICARD ON THE LIPID AND CARBOHYDRATE METABOLISM IN THE OFFSPRING OF RATS WITH EXPERIMENTAL PREECLAMPSIA IN EARLY AND LATE ONTOGENY

E.A. Muzyko[1], V.N. Perfilova[1], A.A. Nesterova[2], K.V. Suvorin[1], I.N. Tyurenkov[1]

[1] Volgograd State Medical University
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131
[2] Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: muzyko.elena@mail.ru

Received 02 Jan 2019 Accepted 08 Jul 2020

Maternal preeclampsia can bring about metabolic disorders in the offspring at different stages of ontogeny. Up to date, no ways of preventive pharmacological correction of lipid and carbohydrate metabolism disorders developing in different periods of ontogeny in the children born to mothers with this pregnancy complication, have been developed.

The aim of the experiment was to study the effect of the gamma-aminobutyric acid derivative succicard (22 mg/kg) and its reference drug pantogam (50 mg) administered per os in the course of treatment in puberty (from 40 to 70 days after birth), on the parameters of lipid and carbohydrate metabolism in the offspring of the rats with experimental preeclampsia, in different periods of ontogeny.

Materials and methods. To assess the activity of lipid and carbohydrate metabolism in the offspring, an oral glucose tolerance test was performed at 40 days, 3, 6, 12 and 18 months of age. The level of glycosylated hemoglobin was measured at the age of 6, 12, and 18 months, and the concentrations of total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides were tested at 40 days, 3, 6, 12, and 18 months of age.

Results. The offspring of the rats with experimental preeclampsia, were found out to have lipid and carbohydrate metabolism disturbances during early (40 days and 3 months of age) and late (6, 12, and 18 months of age) ontogeny. In comparison with the offspring of healthy females, these disturbances were manifested by significantly higher levels of glucose revealed during the oral glucose tolerance test, by high glycosylated hemoglobin in males, and with elevated concentration of total cholesterol and triglycerides and a low level of high-density lipoprotein cholesterol in the negative control rats. Both the gamma-aminobutyric acid derivative succicard and its reference drug pantogam, reduced the negative effect of experimental preeclampsia on lipid and carbohydrate metabolism in the offspring in late ontogeny (6, 12 and 18 months of age). The effectiveness of succicard was either higher or comparable with pantogam.

Conclusion. Thus, the negative impact manifestations of experimental preeclampsia on lipid and carbohydrate metabolism, are revealed in the offspring in early (40 days and 3 months) and late (6, 12 and 18 months of age) ontogeny. The gamma-aminobutyric acid derivative succicard reduces the negative effect of experimental preeclampsia. Based on this finding, the drug implies the possibility of the development of a safe and highly effective medicine for preventive correction of lipid and carbohydrate metabolism disorders in the children born to mothers with preeclampsia.

Keywords: experimental preeclampsia; offspring; GABA derivatives; lipid and carbohydrate metabolism

Abbreviations. AP – arterial pressure; ATP – adenosine triphosphate; GABA – gamma-aminobutyric acid; IUGR – intrauterine growth restriction; TC – total cholesterol; OGTT – oral glucose tolerance test; PE – preeclampsia; TG – triglycerides; HDL-C – high-density lipoprotein cholesterol; EP – experimental preeclampsia.

ВВЕДЕНИЕ

Преэклампсия (ПЭ) – тяжелое осложнение беременности, вызывающее неблагоприятные последствия у матери и ребенка на разных этапах постнатального онтогенеза. У детей ранними осложнениями ПЭ являются недоношенность и синдром задержки внутриутробного развития (ЗВУР), а долгосрочные эффекты проявляются в повышенном риске формирования сердечно-сосудистых, неврологических, эндокринных и метаболических нарушений [1].

Повреждающее действие данного осложнения беременности связывают с ухудшением инвазии цитотрофобласта и неполноценной конверсией спиральных артерий, эндотелиальной дисфункцией, изменением соотношения про- и антикоагулянтных факторов, усиленной выработкой вазоконстрикторов, что в конечном итоге приводит к нарушению кровообращения в системе «мать-плацента-плод» и гипоксии [2, 3]. Воздействие последней во время критических периодов развития плода может вызвать изменения в органах и тканях, что сопровождается их дисфункцией на более поздних этапах онтогенеза [4].

Пренатальное воздействие (ПЭ) увеличивает риск формирования метаболических нарушений у детей в различные сроки индивидуального развития [5, 6].

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

Было показано, что дети с перенесенной церебральной ишемией имеют повышенный уровень глюкозы в крови [7]; с ЗВУР – более высокие по сравнение со здоровыми детьми концентрации общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ) и холестерина липоротеинов низкой плотности с одновременным снижением липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) [8]. Кроме того, у недоношенных детей и с ЗВУР, рожденных матерями с ПЭ, наблюдается резистентность к инсулину и ожирение соответственно [9], что может способствовать развитию гипертонии и сахарного диабета второго типа в более зрелом возрасте.

На сегодняшний день не разработаны способы превентивной фармакологической коррекции нарушений углеводного и липидного обменов, которые возникают на разных этапах постнатального развития у детей, рожденных матерями с ПЭ. Интерес представляют производные гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), так как в ранее проведенных исследованиях было показано их эндотелиопротекторное, антигипоксическое, антиоксидантное, вазодилатирующее и антитромботическое действия [10, 11]. Помимо этого, они способствуют активации тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, а также улучшают утилизацию глюкозы клетками [12], что позволяет предположить возможность их использования для коррекции углеводного и липидного обменов у потомства, подвергшегося воздействию ПЭ.

ЦЕЛЬЮ данного исследования являлось изучение влияния курсового введения в пубертатном периоде (с 40 по 70 день жизни) производного ГАМК сукцикарда и препарата сравнения пантогама на показатели углеводного и липидного обменов потомства крыс с экспериментальной преэклампсией (ЭП) в разные периоды онтогенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Исследование было проведено на потомстве белых беспородных крыс-самок массой 230–250 г с физиологической беременностью и ЭП: самцах и самках в возрасте 40 дней, 3, 6, 12 и 18 месяцев (n=121). Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных Рапполово» (Ленинградская область). Содержание и уход за самками и их потомством в условиях вивария ВолгГМУ осуществляли согласно рекомендациям национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р-33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». 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.

Моделирование экспериментальной преэклампсии

Для спаривания крыс на 12 часов помещали в отдельные клетки в соотношении 2 самки и 1 самец. Наступление беременности определяли по наличию сперматозоидов во влагалищном мазке. После этого каждая беременная самка была отсажена в отдельную клетку. Для моделирования ЭП крысы вместо питьевой воды с 1 по 21 день беременности получали 1,8% раствор хлорида натрия [13]. О развитии ЭП у самок судили по увеличению артериального давления (АД) и белка в моче на 20 день беременности по сравнению с 1 днем. Измерение АД проводили у самок в 1 и 20 дни гестации с помощью прибора неинвазивного измерения давления CODA'TM Non-Invasive Blood Pressure System (Kent Scientific Corporation, США). Для сбора суточной мочи крыс-самок помещали в метаболическую клетку ("Nalgene", Италия). При определения общего белка в моче использовали набор реагентов КлиниТест-БМ ПГК (ЭКО-СЕРВИС, Россия).

У крыс с физиологической беременностью и с моделированной ЭП, величина АД в 1-й день беременности составляла 121,95±6,62 и 119,54±8,31 мм рт.ст. соответственно, к 20-му дню гестации данный показатель был равен 109,74±5,16 и 133,61±9,64 мм рт.ст., прирост составил 17,9% ($p<0,05$).

Уровень белка в суточной моче в начале беременности животных значительно не отличался в двух группах. Однако на 20-й день гестации у самок с ЭП этот показатель составлял 4,91±0,40 мг/сутки, в то время как у здоровых самок он был равен 2,38±0,26 мг/сутки.

Полученные данные дали основание считать, что у самок получавших солевой раствор, развился ЭП.

Дизайн исследования

На 39 день после рождения потомство отсаживали от самок. Эксперимент проводили в 2 этапа. На первом этапе были сформированы группы: 1, 2 – позитивный контроль – потомство (самцы n=10 и самки n=10), рожденное самками без ЭП; 3, 4 – негативный контроль – потомство (самцы n=11 и самки n=10), рожденное самками с ЭП.

На втором этапе формировали группы таким образом, чтобы в каждой оказалось по 10 животных: 1, 2 – позитивный контроль – потомство (самцы и самки), рожденное самками без ЭП и получавшее дистиллированную воду; 3, 4 – негативный контроль – потомство (самцы и самки), рожденное самками с ЭП и получавшее дистиллированную воду; 5, 6, 7, 8, – потомство (самцы и самки), рожденное самками с ЭП и получавшее производное ГАМК сукцикард (композиция 4-фенилпирацетама и янтарной кислоты в соотношении 2:1) (рис. 1) в дозе 22 мг/кг и пре-

парат сравнения пантогам (гопантеновая кислота, ПИК-ФАРМА ПРО ООО (Россия), сироп 100 мг/мл) в дозе 50 мг соответственно. Потомство получало половину эффективной дозы сукцикарда для взрослых животных, ранее выявленной при изучении нейро-, и кардиопротекторной, антигипоксической и антиоксидантной активности [14, 15]. В качестве препарата сравнения был выбран пантогам, поскольку он используется в клинической практике у детей с постгипоксическими нарушениями, вызванными, в том числе, преэклампсией. Гопантеновую кислоту использовали в эффективных дозах по данным литературы [16]. Сукцикард и препарат сравнения вводили перорально один раз в сутки с 40 по 70 день постнатального онтогенеза в одно и то же время, животные групп позитивного и негативного контролей получали дистиллированную воду по той же схеме.

Определяемые показатели липидного и углеводного обменов

Для определения состояния углеводного и липидного обменов у потомства проводили Пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) в возрасте 40 дней, 3, 6, 12 и 18 месяцев, измеряли уровень гликированного гемоглобина в возрасте 6, 12 и 18 месяцев и определяли концентрации ОХ, ХС ЛПВП, ТГ в возрасте 40 дней, 3, 6, 12 и 18 месяцев.

При проведении ПГТТ забор крови осуществляли из хвостовой вены после 12 часовой пищевой депривации. Крысам перорально вводили раствор глюкозы из расчета 4 г вещества на 1 кг веса животного, а затем измеряли концентрацию ее в крови через 30, 60, 90 и 120 мин. после нагрузки для оценки работы эндогенного инсулина [17]. Был использован набор реагентов «Оксохром Глюкоза С» для ферментативного определения глюкозы методом GOD-POD (Erba Lachema, Чехия). Оптическую плотность образцов измеряли на спектрофотометре ПЭ-540 0В (Экрос, Россия) при длине волны 498 нм.

Гликированный гемоглобин отражает суммарный уровень глюкозы, взаимодействующий с гемоглобином в течение 3–4 месяцев. Количественное определение в крови, взятой из подъязычной вены, производили с использованием набора реагентов «Гликогемоглобин» (High Technology, Inc., USA). Гемолизированный образец смешивали со слабой катионобменной смолой. После инкубации в течение 5 минут использовали фильтры, позволяющие отделить супернатант, содержащий гликозилированный гемоглобин, от смолы. Долю гликогемоглобина определяли по величине оптической плотности гликогемоглобиновой фракции и фракции общего гемоглобина. Содержание гликированного гемоглобина в пробе рассчитывали по отношению оптических плотностей. Измерение проводили на спектрофотометре ПЭ-540 0В (Экрос, Россия) при длине волны 415 нм.

Определение содержания ОХ, ХС ЛПВП и ТГ в сыворотке крови осуществляли с использованием наборов реагентов «Холестерин общий» (Ольвекс диагностикум, Россия), «Холестерин ЛПВП» (Ольвекс диагностикум, Россия) и «Триглицериды» (Ольвекс диагностикум, Россия). Забор крови производили из подъязычной вены. Оптическую плотность образцов определяли на спектрофотометре ПЭ-540 0В (Экрос, Россия).

Методы статистического анализа данных

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли в пакете программ STATISTICA v.12.5 (StatSoft Inc., США) по *U*-критерию Манна-Уитни и *t*-критерию Стьюдента для парных сравнений, а также 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

При проведении ПГТТ было выявлено, что потомство, рожденное самками с ЭП, имело больший прирост уровня глюкозы по сравнению с крысами группы позитивного контроля, что может свидетельствовать о нарушении углеводного обмена.

У сорокадневных самцов, рожденных крысами с ЭП, при сравнении с самцами от здоровых самок прирост уровня глюкозы относительно исходных значений (до нагрузки) через 60 мин. после ее введения был в 3 раза ($p<0,05$) выше, через 90 мин. – в 4 раза ($p<0,05$), а через 120 мин. данный показатель в группе позитивного контроля носил отрицательный характер. В то же время у самок в возрасте 40 дней наблюдалась обратная тенденция (рис. 2А). В возрасте 3 месяцев достоверные отличия были у самцов группы негативного контроля через 30 мин. после введения глюкозы – прирост был выше в 1,4 раза ($p<0,05$), чем у животных, рожденных крысами с физиологической беременностью, а у самок через 90 и 120 мин. после введения – прирост был выше в 1,8 и 2,9 раза ($p<0,05$) соответственно (рис. 2В). У шестимесячных самцов, рожденных крысами с осложненной беременностью, прирост уровня глюкозы был достоверно выше в 1,6; 2,1; 1,8 и 2 раза ($p<0,05$) через 30, 60, 90 и 120 мин. после введения соответственно по сравнению с потомством здоровых крыс; у самок – в 1,8; 2,8; 2,7 и 2 раза ($p<0,05$) (рис. 2С). В возрасте 12 месяцев у самцов группы негативного контроля прирост был значительно выше через 30 и 60 мин. после введения глюкозы (в 1,9 и 1,6 раза, $p<0,05$); у самок – на всем протяжении теста (в 1,6 раза ($p<0,05$) через 30 мин. и в 1,4 раза ($p<0,05$) через, 60, 90 и 120 мин. (рис. 2D). У восемнадцатимесячного потомства тенденция сохранялась. Через 60, 90 и 120 мин. после введения глюкозы самцы группы негативного контроля имели больший в 1,2, 1,3 и 1,5 раза ($p<0,05$) прирост по сравнению с группой позитивного контроля; самки – в 1,4, 1,2 и 1,2 раза (рис. 2Е).

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

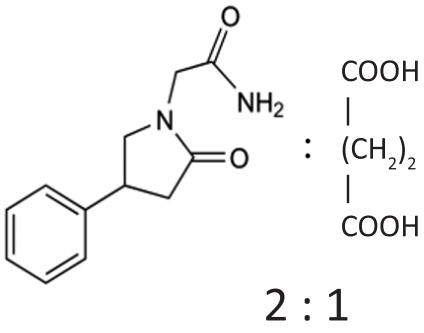

Рисунок 1 – Структурная формула сукцикарда

Таблица 1 – Влияние производных ГАМК на уровень гликированного гемоглобина у потомства самок с ЭП в возрасте 6, 12 и 18 месяцев (M ± m)

Возраст	Группы животных	Пол крысы	Уровень гликированного гемоглобина, % (M ± m)
6 месяцев	Потомство от самок с физиологической беременностью, получавшее дистиллированную воду – позитивный контроль	Самцы	8,43±0,65
		Самки	8,87±0,31
	Потомство от самок с ЭП, получавшее дистиллированную воду – негативный контроль	Самцы	12,56±0,84$
		Самки	9,01±0,61
	Потомство от самок с ЭП, получавшее сукцикард 22 мг/кг	Самцы	7,45±0,74#
		Самки	8,94±0,74
	Потомство от самок с ЭП, получавшее пантогам 50 мг	Самцы	10,69±0,73
		Самки	10,71±0,78
12 месяцев	Потомство от самок с физиологической беременность, получавшее дистиллированную воду – позитивный контроль	Самцы	8,27±0,58
		Самки	7,56±0,81
	Потомство от самок с ЭП, получавшее дистиллированную воду – негативный контроль	Самцы	10,44±0,61*
		Самки	7,49±0,83
	Потомство от самок с ЭП, получавшее сукцикард 22 мг/кг	Самцы	11,34±0,90
		Самки	6,53±0,33
	Потомство от самок с ЭП, получавшее пантогам 50 мг	Самцы	10,39±1,29
		Самки	7,63±0,83
18 месяцев	Потомство от самок с физиологической беременностью, получавшее дистиллированную воду – позитивный контроль	Самцы	9,6±1,00
		Самки	10,55±0,94
	Потомство от самок с ЭП, получавшее дистиллированную воду – негативный контроль	Самцы	12,26±0,87*
		Самки	10,27±0,75
	Потомство от самок с ЭП, получавшее сукцикард 22 мг/кг	Самцы	9,85±0,76#
		Самки	9,24±0,93
	Потомство от самок с ЭП, получавшее пантогам 50 мг	Самцы	10,97±1,06
		Самки	10,52±1,33

Примечание: $ – по критерию Манна-Уитни по сравнению с группой позитивного контроля; * – по критерию Стьюдента по сравнению с группой позитивного контроля; # – по критерию Ньюмена-Кейлса по сравнению с группой негативного контроля (p<0,05)

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

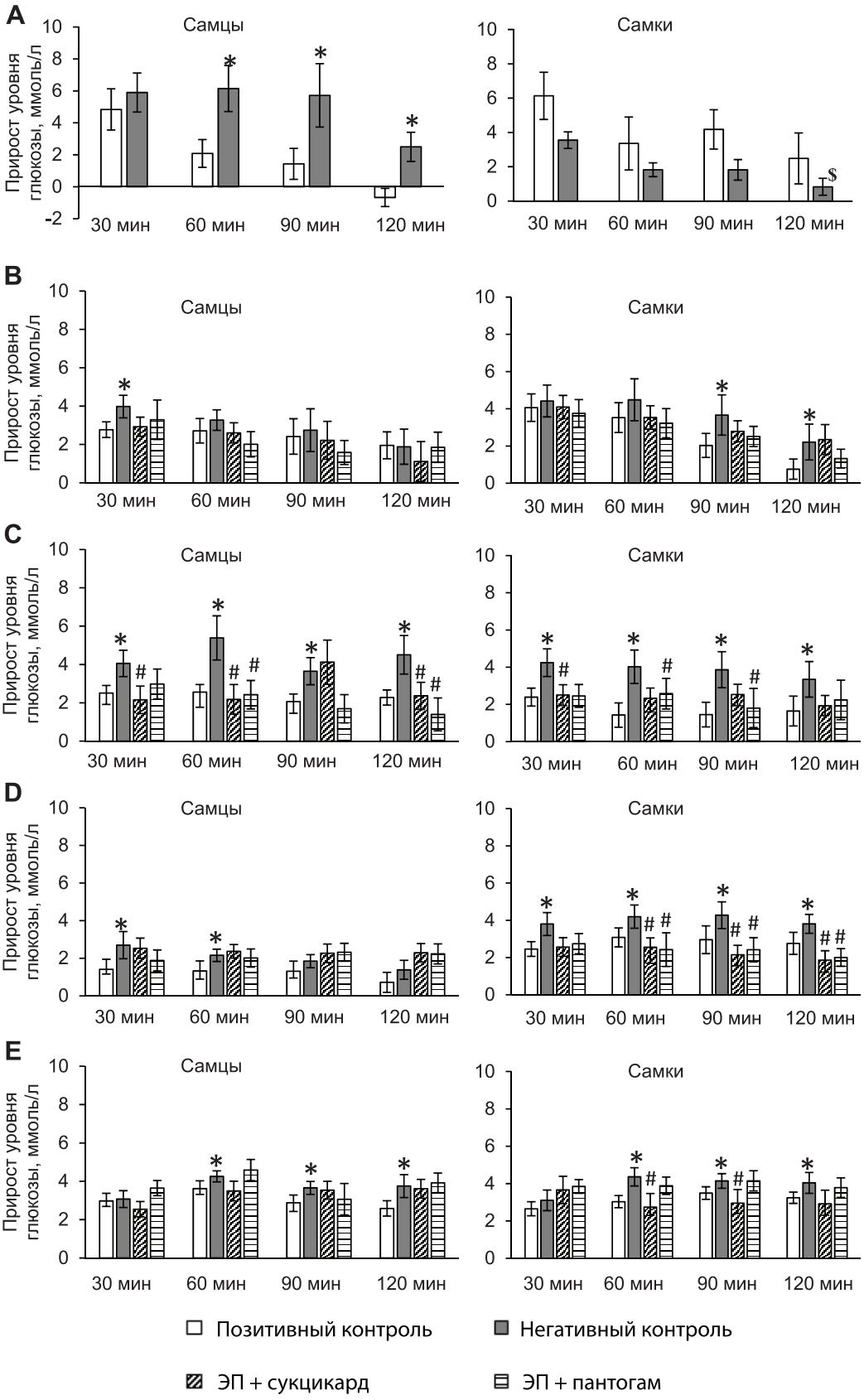

Рисунок 2 – Влияние производных ГАМК на прирост уровня глюкозы при проведении ПГТТ у потомства самок с ЭП в возрасте 40 дней (A), 3 месяцев (B), 6 месяцев (C), 12 месяцев (D) и 18 месяцев (E) (M ± m)

Примечание: $ – по критерию Манна-Уитни по сравнению с группой позитивного контроля; * – по критерию Стьюдента по сравнению с группой позитивного контроля; # – по критерию Ньюмена-Кейлса по сравнению с группой негативного контроля (p<0,05)

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

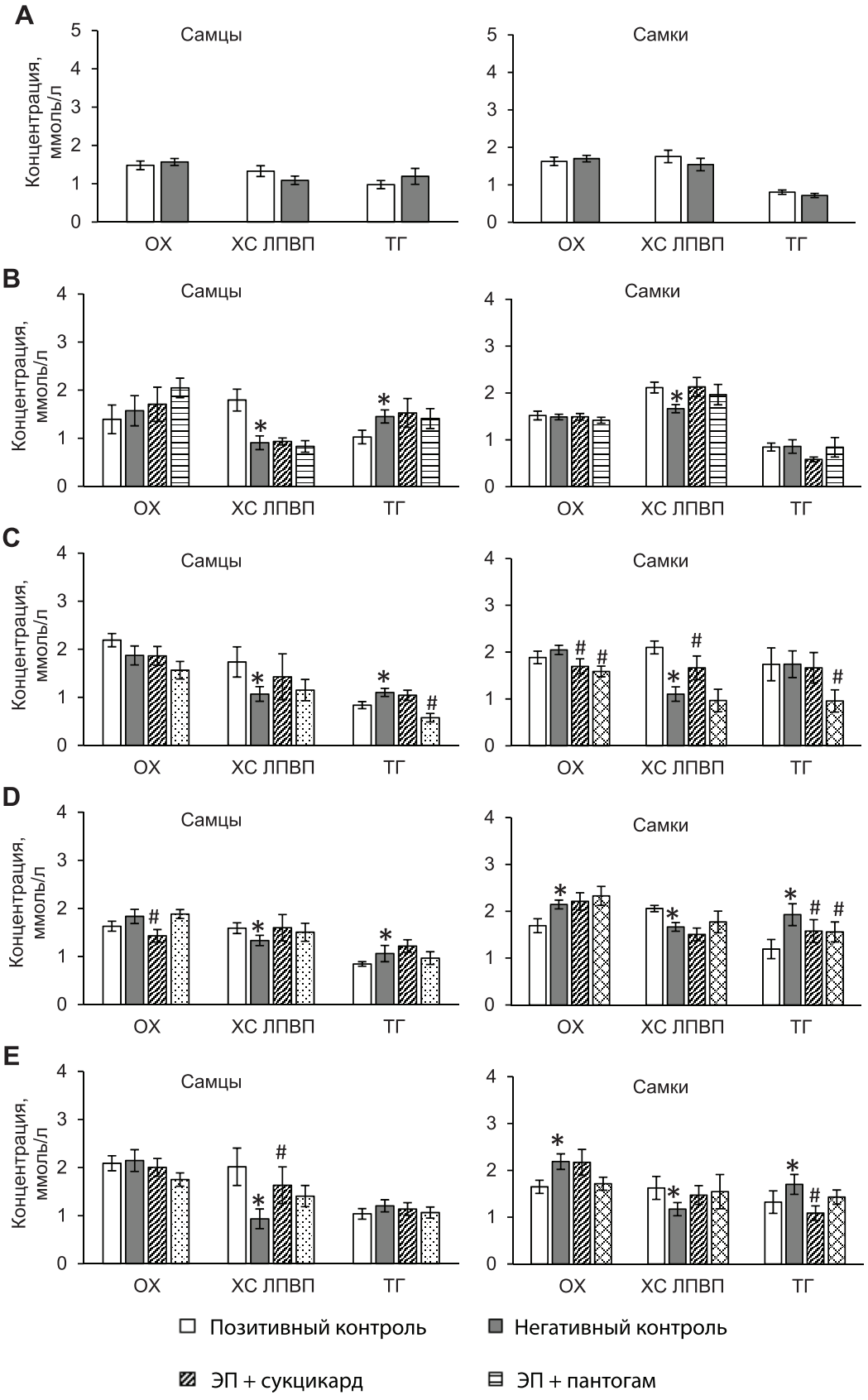

Рисунок 3 – Влияние производных ГАМК на показатели липидного обмена потомства самок с ЭП в возрасте 40 дней (A), 3 месяцев (B), 6 месяцев (C), 12 месяцев (D) и 18 месяцев (E) (M ± m)

Примечание: $ – по критерию Манна-Уитни по сравнению с группой позитивного контроля; * – по критерию Стьюдента по сравнению с группой позитивного контроля; # – по критерию Ньюмена-Кейлса по сравнению с группой негативного контроля (p<0,05)

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

В возрасте 3 месяцев у самцов и самок, которым вводили сукцикард и препарат сравнения, прирост показателя был ниже, чем в группе негативного контроля, однако достоверных отличий выявлено не было (рис. 2B). У шестимесячных самцов, получавших сукцикард, прирост уровня глюкозы был меньше в 1,9; 2,5 и 1,9 раза (p<0,05) через 30, 60 и 120 мин. после введения, у получавших гопантеновую кислоту – в 2,2 и 3,2 раза (p<0,05) через 60 и 120 мин. У самок, которым вводили сукцикард, прирост был ниже в 1,7 раза (p<0,05) через 30 мин. после введения, гопантеновую кислоту – в 1,6 и 2,1 раза (p<0,05) через 60 и 90 мин. (рис. 2C). В возрасте 12 месяцев достоверные отличия были выявлены только у самок, которым вводили производные ГАМК и препарат сравнения. У получавших сукцикард, прирост был меньше в 1,6 раза (p<0,05) через 60 мин. после введения глюкозы и в 2 раза (p<0,05) через 90 и 120 мин., гопантеновую кислоту – в 1,7; 1,8 и 1,9 раза (p<0,05) через 60, 90 и 120 мин. (рис. 2D). Восемнадцатимесячные самки, которым вводили сукцикард, имели достоверно более низкие показатели прироста через 60 и 90 мин. после введения глюкозы (в 1,6 и 1,4 раза, p<0,05). У самок, получавших гопантеновую кислоту, а также самцов, которым вводили сукцикард и препарат сравнения, достоверных отличий от группы негативного контроля выявлено не было (рис. 2E).

При определении уровня гликированного гемоглобина было выявлено, что у самцов, рожденных крысами с ЭП, данный показатель был выше в 1,5 раза (p<0,05) в возрасте 6 месяцев и в 1,3 раза (p<0,05) в возрасте 12 и 18 месяцев по сравнению с группой позитивного контроля. Среди самцов, которым вводили исследуемое производное ГАМК и препарат сравнения, достоверные отличия от группы животных, рожденных самками с осложненной беременностью, были только у получавших сукцикард: в возрасте 6 месяцев уровень гликогемоглобина у них был меньше в 1,7 раза (p<0,05), а в 18 месяцев – в 1,2 раза (p<0,05). У самок достоверных отличий между группами позитивного и негативного контролей, а также получавшими сукцикард и гопантеновую кислоту, не было (табл. 1).

Значительных изменений показателей липидного обмена у животных группы негативного контроля в возрасте 40 дней по сравнению с потомством, рожденным крысами с физиологической беременностью, не было (рис. 3A).

У трехмесячных самцов и самок, рожденных крысами с ЭП, концентрация ОХ в крови не изменялась, а уровень ХС ЛПВП был ниже в 2 и 1,3 раза (p<0,05) соответственно по сравнению с группой позитивного контроля. Изменение концентрации ТГ было только у самцов группы негативного контроля – она была выше в 1,4 раза (p<0,05) по сравнению с потомством здоровых самок (рис. 3B). В возрасте 6 месяцев тенденция сохранялась: у самцов от крыс с осложненной беременностью уровень ХС ЛПВП был ниже в 1,6 раза (p<0,05), ТГ – выше в 1,3 раза (p<0,05), у самок концентрация ХС ЛПВП была ниже в 1,9 раза (p<0,05) (рис. 3C). Двенадцатимесячные самцы и самки группы негативного контроля имели пониженный уровень ХС ЛПВП в 1,2 раза (p<0,05) и повышенную в 1,3 и 1,6 раза (p<0,05) концентрацию ТГ в сыворотке крови, у самок также был значительно повышен уровень ОХ (в 1,3 раза, p<0,05) по сравнению с группой позитивного контроля (рис. 3D). У самцов и самок, рожденных крысами с ЭП, в возрасте 18 месяцев уровень ХС ЛПВП был ниже в 2,2 и 1,4 раза (p<0,05) соответственно по сравнению с потомством здоровых животных. В этом же возрасте у самок уровень ОХ и ТГ был выше в 1,3 раза (p<0,05) (рис. 3, E).

В возрасте 3 месяцев у самцов и самок, получавших сукцикард и препарат сравнения, достоверных отличий от группы негативного контроля не было (рис. 3B). Однако к шестимесячному возрасту у самок, которым вводили сукцикард и гопантеновую кислоту, уровень ОХ был ниже в 1,2 и 1,3 раза (p<0,05) соответственно по сравнению с потомством от крыс с ЭП. Концентрация ХС ЛПВП у самок, получавших сукцикард, была выше в 1,5 раза (p<0,05). Потомство, которое получало гопантеновую кислоту, имело более низкие, чем в группе негативного контроля, уровни ТГ (в 1,9 и 1,8 раза (p<0,05) для самцов и самок соответственно) (рис. 3C). В возрасте 12 месяцев у самцов, которым вводили сукцикард, концентрация ОХ была ниже в 1,3 раза (p<0,05). У самок, которые получали сукцикард и гопантеновую кислоту, уровень ТГ был ниже в 1,2 раза (p<0,05) по сравнению с потомством, рожденным крысами с осложненной беременностью (рис. 3D). В возрасте 18 месяцев статистически значимые отличия от группы негативного контроля были только у потомства, которому вводили сукцикард: у самцов концентрация ХС ЛПВП была выше в 1,8 раза (p<0,05), а у самок уровень ТГ – ниже в 1,6 раза (рис. 3E).

ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день существуют исследования, свидетельствующие о том, что воздействие ПЭ во внутриутробном периоде сопряжено с увеличением риска развития эндокринных и метаболических нарушений у детей, как на ранних этапах постнатального развития, так и в отдаленные периоды жизни [5, 6, 18, 19]. Гипертензивные расстройства беременности, включающие хроническую гипертонию, гестационную гипертензию и ПЭ, согласно параметрической модели выживаемости Вейбулла достоверно повышают риск развития эндокринно-метаболических расстройств у детей в возрасте до 18 лет, и могут проявляться в виде ожирения, гиперлипидемии и сахарного диабета [9, 18]. У новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, уровень ОХ и ТГ в сыворотке крови превышает возрастные нормы [20].

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

Изучение углеводного и липидного обменов у потомства в возрасте 3 и 6 месяцев, рожденного мышами с ЭП, показало повышенную концентрацию глюкозы в крови и больший по сравнению с контрольной группой животных прирост ее при проведении ПГТТ, с одновременной тенденцией к снижению уровня инсулина [21]. У самцов крыс, которые находились на диете с высоким содержанием жира и подверглись действию пренатальной гипоксии, был значительно увеличен уровень глюкозы натощак и наблюдалось нарушение толерантности к глюкозе [22].

По результатам проведенных нами экспериментов было выявлено, что у потомства крыс с ЭП на ранних (40 дней и 3 месяца) и поздних (6, 12 и 18 месяцев) стадиях онтогенеза наблюдаются нарушения углеводного и липидного обменов. Это проявляется в значительно более высоких по сравнению с потомством здоровых самок приростах уровня глюкозы при проведении ПГТТ, высоком уровне гликированного гемоглобина у самцов, а также повышенной концентрации ОХ и ТГ и низком уровне ХС ЛПВП у крыс группы негативного контроля.

Подобное действие ПЭ может объясняться гипоксическим поражением, характерным для данного осложнения беременности. Его воздействие во время критических периодов развития плода оказывает неблагоприятное влияние на органы и ткани и вызывает нарушение их функционирования в постнатальном онтогенезе [4]. Так, Akhaphong B. и соавт. [23] было показано, что у потомства крыс, рожденных самками с экспериментальной гестационной гипертензией, наблюдается увеличение гибели β-клеток, уменьшение их площади в поджелудочной железе и изменение уровня белка mTOR (mammalian target of rapamycin), регулирующего рост клеток и их выживание.

Еще одним механизмом неблагоприятного воздействия ПЭ на обмен веществ в организме ребенка является гипометилирование импринтинговых генов. Имеются данные о том, что у детей, рожденных матерями с ПЭ, наблюдается аберрантное алкилирование дифференциально метилированных регионов генов *IGF2, DLK1* и *MEST*, которые влияют на постнатальный онтогенез. Данный процесс способствует развитию ожирения, диабета, гипертонии и других метаболических нарушений в зрелом возрасте [24–26].

Изменение углеводного и липидного обменов у потомства, вызванное ПЭ у матери, оказывает неблагоприятное действие на здоровье, снижает качество жизни и сокращает ее продолжительность. Поэтому поиск веществ для коррекции подобных осложнений ПЭ является актуальным.

Проведенное нами исследование показало, что курсовое введение в пубертатном периоде производного ГАМК сукцикарда и препарата сравнения достоверно уменьшало прирост уровня глюкозы при проведении ПГТТ у потомства в возрасте 6 месяцев. В возрасте 12 месяцев применение этих веществ в значительной степени снижало данный показатель только у самок, а в возрасте 18 месяцев – прирост был достоверно ниже, чем в группе негативного контроля, у самок, которым вводили сукцикард. При измерении уровня гликированного гемоглобина, было выявлено, что он был существенно ниже только у шести- и восемнадцатимесячных самцов, получавших сукцикард, по сравнению с группой негативного контроля.

При определении липидного профиля у самцов, которым вводили производное ГАМК и препарат сравнения, наблюдалось снижение уровня ТГ в возрасте 6 месяцев у получавших гопантеновую кислоту, уменьшение концентрации ОХ в возрасте 12 месяцев и увеличение ХС ЛПВП в возрасте 18 месяцев у получавших сукцикард. У шестимесячных самок, которым вводили сукцикард и препарат сравнения, снижался уровень ОХ и ТГ, и увеличивался ХС ЛПВП, а у двенадцатимесячных – уменьшалась концентрация ТГ в сыворотке крови. В возрасте 18 месяцев достоверные отличия от группы негативного контроля были выявлены только для самок, получавших сукцикард, уровень ТГ у них был ниже.

Эти данные свидетельствуют о том, что производное ГАМК сукцикард и гопантеновая кислота способствуют улучшению показателей углеводного и липидного обменов на поздних стадиях онтогенеза (6, 12 и 18 месяцев) у потомства крыс с ЭП. По эффективности действия сукцикард превышал или был сопоставим с препаратом сравнения.

Полученные результаты можно объяснить фармакологическими свойствами соединений, составляющих сукцикард (композиция фенилпирацетама и янтарной кислоты). S и R энантиомеры фенилпирацетама являются селективными ингибиторами обратного захвата дофамина и проявляют сродство к переносчику дофамина DAT (dopamine transporter) [27]. При этом известно, что катехоламины и лекарственные препараты, которые стимулируют высвобождение или блокируют обратный захват эндогенных катехоламинов, подавляют аппетит. В экспериментальном исследовании пероральное введение S-фенилпирацетама в течение 8 и 12 недель мышам, находящимся на «западной диете», и крысам линии Zucker, страдающим ожирением, соответственно приводило к значительному уменьшению веса и жировой массы у животных. Кроме того, у них отмечалось снижение уровня глюкозы при проведении ПГТТ [28].

Другой предположительный механизм благоприятного влияния сукцикарда на показатели углеводного и липидного обмена потомства может быть связан с тем, что фенилпирацетам и янтарная кислота, входящие в его состав, способны устранять гипоэнергетическое состояние клеток поджелудочной железы. Первый имеет выраженную антигипоксическую активность, стимулирует окислительно-восстановительные процессы, увеличивает утилизацию глюкозы

клетками [29]. Янтарная кислота является метаболитом цикла Кребса, может способствовать повышению образования НАДН+H^+, $ФАДН_2$ и, как следствие, продукции АТФ в митохондриях. В раннее проведенных исследованиях, было показано, что введение сукцикарда после хронической алкогольной интоксикации приводит к снижению уровня первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов, увеличению активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в митохондриях клеток сердца и головного мозга, а также ограничению митохондриальной дисфункции [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ЭП негативно влияет на показатели липидного и углеводного обменов потомства, как на ранних этапах (40 дней и 3 месяца), так и в более отдаленные периоды (6, 12 и 18 месяцев) индивидуального развития. Производное ГАМК сукцикард уменьшает отрицательное действие ЭП, что позволяет предположить возможность разработки на его основе безопасного и высокоэффективного препарата для превентивной коррекции нарушений углеводного и липидного обменов у детей, родившихся от матерей с ПЭ.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Музыко Е.А. – проведение основных этапов эксперимента, анализ и интерпретация данных, написание статьи.
Перфилова В.Н. – анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение для публикации рукописи.
Нестерова А.А. – анализ и интерпретация данных.
Суворин К.В. – проведение основных этапов эксперимента.
Тюренков И.Н. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Hui Qing Lu, Rong Hu Lasting effects of intrauterine exposure to preeclampsia on offspring and the underlying mechanism // AJP Rep. – 2019. – Vol. 9, No.3. – P. e275–e291. DOI: 10.1055/s-0039-1695004.
2. Галина Т.В., Девятова Е.А., Гагаев Ч.Г. Преэклампсия: новые аспекты патогенеза, концепции скрининга и профилактики // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 3. – С. 67–77.
3. Phipps E.A., Thadhani R., Benzing T., Karumanchi S.A., Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies // Nat. Rev. Nephrol. – 2019. – Vol. 15, No.5. – P. 275–289. DOI: 10.1038/s41581-019-0119-6.
4. Stojanovska V., Scherjon S.A., Plösch T. Preeclampsia as modulator of offspring health // Biol. Reprod. – 2016. – Vol. 94, No.3:53. – P. 1–10. DOI: 10.1095/biolreprod.115.135780.
5. Lin S., Leonard D., Co M.A., Mukhopadhyay D., Giri B., Perger L., Beeram M.R., Kuehl T.J., Uddin M.N. Pre-eclampsia has an adverse impact on maternal and fetal health // Transl. Res. – 2015. – Vol. 165, No.4. – P. 449–463. DOI: 10.1016/j.trsl.2014.10.006.
6. Wu C.S., Nohr E., Bech B.H., Vestergaard M., Catov J.M., Olsen J. Health of children born to mothers who had preeclampsia: a population-based cohort study // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2009. – Vol. 201, No.3. – P. 269.e1–269.e10. DOI:10.1016 / j.ajog.2009.06.060.
7. Тумаева Т.С., Балыкова Л.А. Особенности метаболических процессов у детей, рожденных путем кесарева сечения, в раннем периоде адаптации: роль церебральной ишемии // Вопросы современной педиатрии. – 2015. – Т. 14, No.3. – С. 374–379. DOI: 10.15690/vsp.v14i3.1373.
8. Альбакасова А.А., Евстифеева Г.Ю., Ветеркова З.А., Суменко В.В., Красиков С.И., Шарапова Н.В. Характеристика липидного спектра сыворотки крови у новорожденных с задержкой внутриутробного развития // Вестник ОГУ. – 2012. – Т. 137, №1. – С. 189–192.
9. Washburn L., Nixon P., Russell G., Snively B.M., O'Shea T.M. Adiposity in adolescent offspring born prematurely to mothers with preeclampsia // J. Pediatr. – 2013. – Vol. 162, No.5. – P. 912–917. DOI: 10.1016/j.jpeds.2012.10.044.
10. Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Резникова Л.Б., Смирнова Л.А., Рябуха А.Ф., Сучков Е.А., Кузнецов К.А. Производные ГАМК цитрокард и салифен уменьшают тяжесть течения экспериментального гестоза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, №1. – С. 49–52.
11. Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Карамышева В.И., Попова Т.А., Лебедева С.А., Михайлова Л.И., Жакупова Г.А. Гравидопротекторное действие фенибута при экспериментальной преэклампсии // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77, №11. – С. 6–10.
12. Бурчинский С.Г. ГАМК-ергические средства в фармакотерапии хронической церебральной ишемии // Международный неврологический журнал. – 2015. – №1(71). – С. 101–105.
13. 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. – No.2(2). – P. 7. DOI: 10.15226/2381-2915/2/2/00112.
14. Попова Т.А., Хусаинова Г.Х., Прокофьев И.И., Перфилова В.Н., Тюренков И.Н., Багметова В.В., Малюженко И.В., Ганзикова Н.С., Дудченко Г.П., Островский О.В. Коррек-

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-325-335

ция производными нейроактивных аминокислот алкогольных повреждений митохондрий клеток сердца и головного мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – №2. – С. 176–181.
15. Тюренков И. Н. Поиск в ряду производных ГАМК лекарственных средств лечения нейродегенеративных поражений // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2011. – №. S. – С. 32–34.
16. Воронина, Т.А. Пантогам и пантогам актив. Клиническое применение и фундаментальные исследования / под ред. Копелевича В.М. М.: Триада-фарм, 2009. С. 11–30.
17. Спасов. А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., Тибирькова Е.В., Проскурина И.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению пероральных лекарственных средств для лечения сахарного диабета / В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М.: Гриф и К. 2012. – 944 с.
18. Paz Levy D., Sheiner E., Wainstock T., Sergienko R., Landau D., Walfisch A. Evidence that children born at early term (37-38-6/7 weeks) are at increased risk for diabetes and obesity-related disorders // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2017. – Vol. 217, No.5. – P. 588.e1–588.e11. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.07.015.
19. Khalyfa A., Cortese R., Qiao Z., Ye H., Bao R., Andrade J., Gozal D. Late gestational intermittent hypoxia induces metabolic and epigenetic changes in male adult offspring mice // J. Physiol. – 2017 – Vol. 595, No.8. – P. 2551–2568. DOI: 10.1113/JP273570.
20. Токбергенова С.М, Калменова П.Е., Оспанова Ш.М., Кемельбеков К.С. Особенности состава липидов при церебральной ишемии у новорожденных детей // Вестник КазНМУ. – 2013. – №4(2). – С. 200–201.
21. McDonnold M., Tamayo E., Kechichian T., Gamble P., Longo M., Hankins G.D., Saade G.R., Costantine M.M. The effect of prenatal pravastatin treatment on altered fetal programming of postnatal growth and metabolic function in a preeclampsia-like murine model // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2014. – Vol. 210, No.6. – P. 542.e1–7. DOI: 10.1016/j.ajog.2014.01.010.
22. Shah A., Reyes L.M., Morton J.S., Fung D., Schneider J., Davidge S.T. Effect of resveratrol on metabolic and cardiovascular function in male and female adult offspring exposed to prenatal hypoxia and a high-fat diet // J. Physiol. – 2016. – Vol. 594, No.5. – P. 1465–1482. DOI: 10.1113/JP271133.
23. Akhaphong B., Lockridge A., Jo S., Mohan R., Wilcox J.A., Wing C.R., Regal J.F., Alejandro E.U. Reduced uterine perfusion pressure causes loss of pancreatic β-cell area but normal function in fetal rat offspring // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2018. – Vol. 315, No.6. – P.1220-1231. DOI: 10.1152/ajpregu.00458.2017.
24. Jing He, Aiping Zhang, Min Fang, Rong Fang, Jiamei Ge, Yuan Jiang, Hong Zhang, Cong Han, Xiaoqun Ye, Danqing Yu, Hefeng Huang, Yun Liu, Minyue Dong Methylation levels at IGF2 and GNAS DMRs in infants born to preeclamptic pregnancies // BMC Genomics. – 2013. – No.14: 472. DOI: 10.1186/1471-2164-14-472.
25. von Ehr J., von Versen-Höynck F. Implications of maternal conditions and pregnancy course on offspring's medical problems in adult life // Arch. Gynecol. Obstet. – 2016 – Vol. 294, No.4. – P. 673–679. DOI: 10.1007/s00404-016-4178-7.
26. Wang X., Wan L., Weng X., Xie J., Zhang A., Liu Y., Dong M. Alteration in methylation level at differential methylated regions of MEST and DLK1 in fetus of preeclampsia // Hypertens. Pregnancy. – 2018. – Vol. 37, No.1. – P. 1–8. DOI: 10.1080/10641955.2017.
27. Zvejniece L., Svalbe B., Veinberg G., Grinberga S., Vorona M., Kalvinsh I., Dambrova M. Investigation into stereoselective pharmacological activity of phenotropil // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. – 2011. – Vol. 109, No.5. – P.407-12. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2011.00742.x
28. Zvejniece L., Svalbe B., Vavers E., Makrecka-Kuka M., Makarova E., Liepins V., Kalvinsh I., Liepinsh E., Dambrova M. S-phenylpiracetam, a selective DAT inhibitor, reduces body weight gain without influencing locomotor activity // Pharmacology Biochemistry and Behavior. – 2017. – Vol. 160. – P. 21–29. DOI: 10.1016/j.pbb.2017.07.009
29. Белоусов Ю.Б., Мухина М.А. Фенотропил – ноотропный препарат нового поколения // Качественная Клиническая Практика. – 2005. – № 3.

АВТОРЫ

Музыко Елена Андреевна – аспирант кафедры фармакологии и фармации ИНМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-0535-9787. E-mail: muzyko.elena@mail.ru

Перфилова Валентина Николаевна – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и фармации ИНМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2457-8486. E-mail: vnperfilova@mail.ru

Нестерова Алла Анатольевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры морфологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3140-3016. E-mail: aanesterova2013@gmail.com

Суворин Кирилл Витальевич – студент 6-го курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: kvsuvorin1@mail.ru

Тюренков Иван Николаевич – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и фармации ИНМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7574-3923. E-mail: fibfuv@mail.ru