

На правах рукописи

МИХАЙЛОВА ЛЮДМИЛА ИВАНОВНА

**КОРРЕКЦИЯ ПРОИЗВОДНЫМИ НЕЙРОАКТИВНЫХ АМИНОКИСЛОТ
ОТКЛОНЕНИЙ В ПСИХИЧЕСКОМ И ФИЗИЧЕСКОМ РАЗВИТИИ
ПОТОМСТВА ОТ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГЕСТОЗОМ**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

ВОЛГОГРАД - 2015

Работа выполнена на кафедре фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

Научный руководитель:

Перфилова Валентина Николаевна
доктор биологических наук

Научный консультант:

Тюренков Иван Николаевич
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Гарибова Таисия Левоновна
доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»

Покровский Михаил Владимирович
заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии НИУ «БелГУ»

Ведущая организация:

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Защита состоится «___» _____ 201__ г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1 и на сайте www.volgmed.ru

Автореферат разослан «___» _____ 201__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Гестоз (преэклампсия, ПЭ) является одним из наиболее тяжелых осложнений беременности. Как самостоятельное мультифакториальное заболевание, либо сочетанная патология, он зачастую служит основной причиной преждевременных родов, представляет серьезную опасность для жизни и здоровья матери и плода (Lindheimer M.D., Umas Y.G. 2006; Powers R.W., Speer P.D., Frank M.P. et al., 2008). ПЭ встречается у 6–8% беременных в развитых странах и превышает 20% в развивающихся. В России частота гестоза из года в год увеличивается и, по последним данным, составляет от 2 до 14% у практически здоровых беременных и значительно возрастает (до 40% и более) при наличии у них сопутствующих заболеваний (Павлов О.Г., 2006; Сидорова И.И., 2007; Айламазян Э.К., Мозговая Е.В., 2008; Справочные данные Минздравсоцразвития РФ, 2008; Торчинов А.М., Кузнецов В.П., Джонбобоева Г.Н. и др., 2010).

Несмотря на большое количество исследований по изучению патогенеза преэклампсии, до сих пор нет единого мнения о том, что является пусковым или основным механизмом развития этого осложнения беременности. В последнее время ключевую роль в генезе гестоза отводят дисфункции эндотелия (Айламазян Э.К., Мозговая Е.В., 2008; Стрижаков А.Н., Добровольская И.В., Игнатко И.В., 2011; Покровский М.В., Погорелова Т.Г., Гуреев В.В. и др., 2012; Duhl A.J., Paidas M.J., Ural S.H., 2007; Yanxia L., Li N., Liu X. et al., 2008), вызывающей вазоспазм, увеличение системного сосудистого сопротивления, повышение артериального давления, нарушение функции почек, развитие отеков, активацию коагуляционной системы, окислительный стресс, нарушение микроциркуляции в системе «мать-плацента-плод», ишемию тканей, возникновение риска отслойки плаценты, что может быть причиной хронической гипоксии и гипертрофии плода (Евтушенко И.Д., Радионченко А.А., Красноносеньких Т.П., 2003; Sibai B., 2005; Sedeek M., Dekker G., Kupfermins M., 2008; McCoy S., Baldwin K., 2009; Eiland E., Nzerue C., Faulkner M., 2012). Как следствие, у детей обнаруживается синдром задержки роста, в тяжелых случаях – дистресс и внутриутробная гибель, повышается вероятность развития заболеваний сердечно-сосудистой, мочевыделительной, эндокринной и других систем в постнатальном периоде (Low J.A., 2004; Wallis A.B., Saftlas A.F., Hsia J. et al., 2008; Khashu M., Narayanan M., Bhargava S., Osiovich H., 2009). При гестозе нередко отмечается гипергомоцистеинемия, а в сочетании с недостаточностью маточно-плацентарного кровотока, гипоксией и повышением продуктов перекисного окисления липидов возрастает риск повреждения нервной системы плода, появления широкого спектра отдаленных психомоторных расстройств, таких как синдром дефицита внимания, детский церебральный паралич с двигательными, коммуникативными и интеллектуальными расстройствами (Барашнев Ю.И., 2005; Абдаладзе Н.С., 2011; Grace T., Bulsara M., Pennell C. et al., 2014).

Применяемые виды консервативной терапии ПЭ не всегда дают положительный эффект, а по данным некоторых авторов 15-25% беременных остаются к ним резистентными (Ержан З.Е., Раева Р.М., Моцкалова Г.Н. и др., 2013; Alanis M.C., Johnson D.D., 2008). Часто происходит прогрессирование гестоза и возникает необходимость досрочного родоразрешения (Ветров В.В., 2000; Шейкина Т.В., Рогачевский О.В., Пучко Т.К. и др., 2011). В этой связи актуальным является направленный поиск лекарственных средств для профилактики и лечения ПЭ у беременных, а также коррекции состояния новорожденных.

Во многих исследованиях, включая выполненные на кафедре фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей Волгоградского государствен-

ного медицинского университета, показано, что различные производные гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот, а также соединения РГПУ-135, РГПУ-238 и РГПУ-242, обладают нейропротекторными, вазодилатирующими, гипотензивными, антиоксидантными, антиагрегантными свойствами, ограничивают процессы перекисного окисления липидов на различных моделях патологий (Карагезян Г.К., Топузян В.О., Овакимян С.С. и др., 2008; Бородкина Л.Е., 2009; Перфилова В.Н., 2009; Робертус А.И., 2010; Иванова Л.Б., Карамышева В.И., Перфилова В.Н. и др., 2012; Филатова Н.М., 2012; Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Попова Т.А. и др., 2013; Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Резникова Л.Б. и др., 2014; Макарова Л.М., Приходько М.А., Погорельый В.Е. и др., 2014; Киселев А.В., 2014). Это позволяет предположить, что вещества с таким спектром фармакологической активности могут предупреждать развитие экспериментального гестоза (преэклампсии) у самок крыс и постнатальных осложнений у потомства, что и обусловило выбор их для исследования.

Степень разработанности проблемы

Изучением этиологии, патогенеза, диагностики и коррекции ПЭ, а также влияния данного осложнения на организм плода в течение длительного времени занимаются отечественные и зарубежные ученые (Айламазян Э.К., Мозговая Е.В., Стрижаков А.Н., Сухих Г.Т., Шалина Р.И., Барашнев Ю.И., Кулаков В.И., Покровский М.В., Böger R.H., Brandão A.H.F, Beausejour A., Eiland E., Nzerue C., Davison J.M., Hermes W. и др.). Выявлено, что последствиями гестоза могут быть задержка роста плода, рождение недоношенных детей, гибель антенатально или в младенчестве (Khashu M., Narayanan M., Bhargava S. et al., 2009; Berg C.J., Mackay A.P., Qin C. et al., 2009; Duley L., 2009; Simmons R.A., 2009; Tuovinen S., Räikkönen K., Kajantie E. et al., 2010; Eiland E., Nzerue C., Faulkner M., 2012). В постнатальном периоде у детей отмечается повышенный риск развития патологий органов и систем (Рогалёва Т.Е., Белокриницкая Т.Е., Короленко Т.Г. и др., 2008; Самсонова Т.В., 2009; Plank C., Oestreicher I., Hartner A. et al., 2006; Simmons R.A., 2009; Suppo de Souza R.L.M., Bentlin M.R., Trindade C.E., 2012). Несмотря на длительное изучение ПЭ и ее осложнений, недостаточно внимания уделяется проблемам и перспективам поиска новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов для профилактики и лечения гестоза у беременных, а также коррекции состояния детей, рожденных от матерей с этой патологией.

Цель исследования

Разработка на основе новых производных нейроактивных аминокислот веществ, предупреждающих осложнения экспериментального гестоза (ЭГ) у потомства в пре- и постнатальном периоде.

Задачи исследования

1. Изучение влияния соединений РГПУ-135 и РГПУ-242 на артериальное давление, концентрацию белка в моче, вынашивание и родоразрешение крыс с ЭГ.

2. Оценка физического развития и скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов потомства от крыс с ЭГ, получавших исследуемые производные глутамата и ГАМК в течение гестации.

3. Изучение когнитивных функций, эмоциональной и ориентировочно-исследовательской активности крысят, рожденных самками с ЭГ, получавшими во время беременности соединения РГПУ-135, РГПУ-242.

4. Исследование функционального состояния ГАМК-, холин- и дофаминергической систем потомства от самок с ЭГ, получавших исследуемые производные глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот в период гестации.

5. Изучение показателей липидного, углеводного обмена, а также выделительной функции почек у потомства самок с ЭГ, получавших исследуемые соединения.

6. Оценка изменений показателей когнитивных функций, эмоционального состояния, ориентировочно-исследовательского поведения, двигательной активности потомства от самок с ЭГ, получавшего соединения РГПУ-135, РГПУ-238, РГПУ-242 с 30 по 60 день постнатального развития.

Новизна исследования

Впервые получены данные о действии производных ГАМК и глутаминовой кислоты - соединений РГПУ-135 и РГПУ-242 на развитие экспериментального гестоза у самок-крыс и показатели физического развития: прорезывание резцов, открытие глаз, созревание сенсорно-двигательных рефлексов - слуховой, обонятельной чувствительности, вестибулярной реакции, координации движений, силы и тонуса мышц у крысят от самок с ЭГ, получавших исследуемые соединения в период гестации. У потомства крыс опытных групп отмечен низкий уровень тревожности, более высокие показатели процессов обучения, памяти и функционирования дофамин-, ГАМК- и холинергической нейромедиаторных систем по сравнению с потомством от самок с ЭГ контрольной группы. Обнаружено, что соединение РГПУ-242 снижает уровень тревожности, а соединение РГПУ-238 способствует формированию и сохранению памятного следа при введении их потомству от самок с ЭГ с 30-го по 60-й день постнатального периода.

Научно-практическая ценность работы

В результате исследования выявлено соединение РГПУ-242, способствующее, при введении его самкам с ЭГ в период гестации, ограничению у них артериальной гипертензии и протеинурии, снижению числа случаев рождения мертвого потомства и гибели его в послеродовом периоде, ускорению сроков созревания сенсорно-двигательных рефлексов, улучшению физического и психического развития потомства в постнатальном онтогенезе. Соединение под лабораторным шифром РГПУ-238 оказывает позитивное влияние на когнитивные функции потомства при введении его крысятам в постнатальном периоде. Результаты работы дают возможность обосновать перспективность создания на основе соединения РГПУ-242 средства для профилактики и лечения преэклампсии у беременной, а на основе соединения РГПУ-238 – для коррекции когнитивных функций у детей, рожденных от матерей с ПЭ.

Реализация результатов

Результаты проведенного исследования включены в материалы лекций и практических занятий для студентов на кафедре фармакологии ВолгГМУ, Пятигорского медико-фармацевтического института, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» и для интернов и слушателей факультета усовершенствования врачей и провизоров на кафедре фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ. Методические подходы к поиску и доклиническому фармакологическому изучению веществ, способных ограничивать повреждающее действие экспериментального гестоза на организм самки и потомства, используются в научно-исследовательской работе кафедр фармакологии, фармакологии и биофармации ФУВ, НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета, кафедре фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института.

Методология и методы исследования

В исследовании использован комплексный подход к изучению влияния веществ на развитие экспериментального гестоза у крыс, моделированного заменой питьевого режима на 1,8 % раствор натрия хлорида с 7-го по 21-й день гестации, проявляющегося повышением артериального давления, протеинурией и высоким числом мертворождений, а также отклонениями в психосоматическом развитии потомства в постнатальном онтогенезе. В качестве объектов исследования выступали белые бес-

породные крысы-самки в возрасте 4-5 месяцев и их потомство от момента рождения и до 10 месяцев. Показатели физического развития крысят регистрировались со 2-го по 80-й день постнатального периода, показатели психического развития - с 20-го дня до 10 месяцев. Изучение влияния производных глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот на течение беременности, родоразрешение и постнатальное развитие потомства от самок с ЭГ проводилось с использованием методических рекомендаций по доклиническому изучению лекарственных средств (Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., 2012) с применением соответствующих методов статистической обработки данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Поиск среди производных ГАМК и глутаминовой кислоты веществ, ограничивающих повреждающее действие экспериментального гестоза, является перспективным направлением создания новых высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов для коррекции отклонений развития потомства в послеродовом периоде.

2. У потомства крыс – самок с ЭГ, получавших в период гестации соединение РГПУ-242, формирование сенсорно-двигательных рефлексов: слуховой, обонятельной чувствительности, вестибулярной реакции, координации движений, силы и тонуса мышц отмечается значительно раньше, чем в группе негативного контроля.

3. Соединение РГПУ-242, вводимое самкам с ЭГ в течение беременности, оказывает положительное влияние на показатели физического развития у потомства, способствует более раннему прорезыванию резцов и открытию глаз.

4. У помета самок с ЭГ, получавших с 7-го по 21-й день гестации соединение РГПУ-242, отмечался более низкий уровень тревожности и более высокие показатели когнитивных функций по сравнению с животными негативного контроля.

5. Соединение РГПУ-238, вводимое потомству от самок с ЭГ с 30 по 60 день постнатального периода, облегчает у него процессы обучения, улучшает память.

Личный вклад

Автором самостоятельно обобщены и проанализированы данные литературы по проблеме, выполнена экспериментальная часть работы, проведены статистическая обработка и описание результатов исследования. Автор принимал участие в формулировке задач, выводов и научно-практических рекомендаций. При его участии проведен подбор методов исследования, разработаны протоколы экспериментов, дизайн исследования.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности результатов исследования подтверждается значительным объемом экспериментальных данных, применением современного, высокотехнологичного оборудования, адекватных общепринятых методов и критериев статистической обработки данных. Материалы работы докладывались и обсуждались на V международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения-2013» (Санкт-Петербург, 2013, диплом I степени), VIII Международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, организуемой Воронежским, Курским и Казанскими медицинскими ВУЗами (Воронеж, 2014), 72-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2014, диплом III степени). По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 8 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 177 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, научно-практических рекомендаций и списка литературы, включающего 299 источников, из них 135 отечественных и 164 зарубежных авторов. Работа проиллюстрирована 39 таблицами и 10 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе приведены данные исследований отечественных и зарубежных авторов о негативном влиянии гестоза (преэклампсии) на детей. Показано, что ключевую роль в возникновении и развитии гестоза играет эндотелиальная дисфункция, приводящая к нарушению маточно-плацентарного кровотока и гипоксии плода. Как следствие обнаруживается задержка его роста и развития, повышенная внутриутробная гибель и смертность в младенчестве, вероятность рождения недоношенных детей. При недостаточном поступлении кислорода к формирующемуся плоду, происходит нарушение закладки основных нейромедиаторных систем мозга и ряда других важнейших систем организма. В постнатальном периоде у детей, рожденных от матерей с ПЭ, наблюдаются отставание в физическом развитии, повышение риска возникновения заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, выделительной систем различных нарушений обмена веществ, возникает угнетение ЦНС, синдром возбуждения, депрессии, нарушение памяти. Показано, что производные глутамата и ГАМК обладают поливалентным действием: эндотелиопротекторным, вазодилатирующим, антиагрегантным, антигипоксическим, что позволяет считать перспективным поиск среди них веществ для профилактики гестоза и коррекции отклонений у детей.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материалов и методов исследования. Эксперименты проводились в 2 блока. Первый блок был выполнен на 35 белых беспородных крысах-самках массой 220-250 г и их потомстве, в количестве 284 особи (изучаемые вещества вводились самкам в период гестации). Второй блок экспериментов был выполнен на потомстве от 22 крыс в количестве 165 особей (исследуемые вещества получало потомство в постнатальном периоде).

Крысы получены из питомника лабораторных животных «Столбовая» РАМН, Московская обл. и ФГПУ «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Содержание и уход за ними осуществлялся согласно рекомендациям национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Международных рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (The European Convention, 1986). Экспериментальная часть работы выполнена в соответствии с заключением этической экспертизы: протокол № 176-2013 от 8 мая 2013 года.

В работе изучались производные глутаминовой кислоты - соединение РГПУ-135 (гидрохлорид бета-фенил-глутаминовой кислоты) и соединение РГПУ-238 (диметилэфир гидрохлорида бета-фенил-глутаминовой кислоты), а также производное гамма-аминомасляной кислоты - соединение под лабораторным шифром РГПУ-242 (метилэфир 3-пиридил-ГАМК). Вещества синтезированы на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета имени А.Н. Герцена (Санкт-Петербург, Россия) под руководством профессора Берестовиц-

кой В.М.¹ В качестве препарата сравнения были использованы Весел Дуэ ф (сулодексид) (Alfa Wassermann, Италия), пирацетам («Асфарма», Россия) и пантогам (гопантеповая кислота) («ПИК-ФАРМА», Россия).

Крысы-самки для спаривания помещались в отдельные клетки по 2 самки и 1 самцу на 12 часов. Наступление беременности определялось по наличию сперматозоидов во влагалищном мазке.

Экспериментальный гестоз моделировался путем замены питьевой воды на 1,8% р-р NaCl у беременных самок с 7-го по 21-й день гестации (Beausejour A., Auger K., St-Louis J. et al., 2003).

Животные в первом блоке экспериментов были поделены на группы:

1 – позитивный контроль - беременные самки без ЭГ (n=6) и их потомство (n=49). 2 – негативный контроль - самки с ЭГ, получавшие физ. р-р (n=10), и их потомство (n=62). 3 – опытная группа - самки с ЭГ, получавшие соединение РГПУ-135 в дозе 26 мг/кг (n=7), и их потомство (n= 49). 4 – опытная группа – самки с ЭГ, получавшие соединение РГПУ-242 в дозе 23 мг/кг (n=6), и их потомство (n= 60). 5 – опытная группа - самки с ЭГ, получавшие препарат сравнения сулодексид в дозе 30 ЛЕ (n=6), и их потомство (n= 64). Исследуемые соединения и физ. р-р вводились per os 1 раз в день с 7-го по 21-й день гестации.

Во втором блоке экспериментов потомство от самок с ЭГ было поделено на группы:

1 – позитивный контроль – потомство, рожденное от самок с неосложненной беременностью (n=30). 2 – негативный контроль – потомство, рожденное от самок с ЭГ, получавшее физ. р-р (n=24). 3 – опытная группа – потомство от самок с ЭГ, получавшее соединение РГПУ-135 в дозе 13 мг/кг (n=23). 4 – опытная группа – потомство от самок с ЭГ, получавшее соединение РГПУ-238 в дозе 14 мг/кг (n=23). 5 – опытная группа – потомство от самок с ЭГ, получавшее соединение РГПУ-242 в дозе 11,5 мг/кг (n=24). 6 – опытная группа – потомство от самок с ЭГ, получавшее препарат сравнения пирацетам в дозе 50 мг/кг (n=21). 7 – опытная группа – потомство от самок с ЭГ, получавшее препарат сравнения пантогам в дозе 50 мг/кг (n=20). Исследуемые соединения и физ. р-р. вводились per os 1 раз в день с 30-го по 60-й день постнатального периода.

Использовались наиболее эффективные дозы исследуемых соединений, выявленные при изучении нейро-, эндотелио- и кардиопротекторной, антистрессорной, антиишемической активности (Епишина В.В., 2006; Бородкина Л.Е., 2009; Перфилова В.Н., 2009; Робертус А.И., 2010; Воронков А.В., Тюренков И.Н., 2011; Тюренков И.Н., Иванова Л.Б., Карамышева В.И. и др., 2012, Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Попова Т.А. и др., 2013). Препараты сравнения применялись в эффективных дозах по данным литературы (Печерина Л.В., Мозговая Е.В., 2004; Панина О.С., Черненко Ю.В., Тихая Н.С. и др., 2011; Воронков А.В., 2011; Стасюк О.Н., 2012).

Измерение артериального давления проводилось на бодрствующих беременных самках в первый и последний дни гестации неинвазивным методом с хвоста с использованием прибора ИТС 29 (ИТС Life Science Inc., США).

Определение концентрации белка в суточной моче осуществлялось методом с пирогалловым красным. Были использованы наборы реагентов «Ольвекс диагностика» (Россия). Измерение проводилось в оптических кюветах в спектрофотометре ПЭ -5400В (Экрос, Россия).

¹ Выражаем искреннюю благодарность зав. кафедрой органической химии РГПУ им. А.И. Герцена, д.х.н., проф. Берестовицкой В.М., к.х.н., доц. Васильевой О.С. и всем сотрудникам кафедры за предоставленные для исследования вещества

Физическое развитие потомства крыс с ЭГ исследовали по срокам отлипания ушной раковины, появления волосяного покрова, прорезывания резцов, открытия глаз, опускания семенников, открытия влагалища. Наблюдения велись со 2-го дня постнатального периода. (Дурнев А.Д., Смольникова Н.М., Скосырева А.М. и др., 2012).

Скорость созревания **сенсорно-двигательных рефлексов и координации движений** потомства крыс с ЭГ оценивали по времени появления опоры на задние конечности, подъема всего тела, мышечной силе, переворачиванию в свободном падении и на плоскости, отрицательному геотаксису, избеганию обрыва, реакции на акустический стимул, подниманию головы и передних лап, ползанию, обонятельной реакции (Дурнев А.Д., Смольникова Н.М., Скосырева А.М. и др., 2012).

Изучение психического состояния потомства крыс с ЭГ по выраженности и динамике поведенческих элементов, исследовательского поведения, уровню эмоциональной реактивности, тревожности, когнитивных функций, способности к обучению и сохранению памятного следа проводили в тестах «Открытое поле» (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (Pellow S., Chopin P., Pile S. et al., 1985), «Темно-светлая камера» (Амикишиева А.В., 2009), «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) (Воронина Т.А., 1989), «Экстраполяционное избавление» (ТЭИ) (Бондаренко Н.А., 1990), «Радиальный восьмилучевой лабиринт» (Вокина В.А., 2011; Olton D.S., 1987) в различные периоды онтогенеза.

Исследование водного диуреза проводили у потомства из первого блока экспериментов в возрасте 6 месяцев после введения через зонд в желудок воды из расчета 2мл/100 г с предварительной депривацией в течение 3 часов. Крыс сажали в метаболические камеры («Nalgene», Италия) и измеряли диурез через 10, 20, 30, 60, 90 и 120 минут (Дзугкоева Ф.С., Датиева Л.Р., 2004).

Пероральный глюкозотолерантный тест проводился у потомства, рожденного от крыс с ЭГ, из первого блока экспериментов в возрасте 3 и 6 месяцев. Забор крови осуществлялся из хвостовой вены после 6 часовой пищевой депривации. После первого забора животным давали глюкозную нагрузку per os в виде 40%-ного раствора глюкозы в дистиллированной воде из расчета 4 г/кг. После этого, через 30, 60, 90 и 120 минут осуществляли повторный забор крови для оценки работы эндогенного инсулина (Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л. и др., 2012). Был использован набор реагентов «Оксохром Глюкоза С» для ферментативного определения глюкозы методом GOD-POD (Erba Lachema, CZ). Измерение проводилось на спектрофотометре ПЭ-5400В (Экрес, Россия).

Исследование липидного обмена проводили у потомства из первого блока экспериментов в возрасте 3 и 6 месяцев. Забор крови осуществлялся из подъязычной вены. Для определения содержания общего холестерина использовался набор реагентов «Холестерин общий» («Ольвекс диагностикум», Россия), холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) - набор «Холестерин ЛПВП ФС» (ЗАО «ДИА-КОН-ДС», Россия), триглицеридов – «Триглицериды» («Ольвекс диагностикум», Россия) Интенсивность окраски реакционной среды была пропорциональна содержанию липидов в исследуемом материале и определялась фотометрически при длине волны 500 нм.

Состояние центральной холинергической системы оценивали на модели скополаминовой амнезии. Для получения амнезии потомству крыс из первого блока экспериментов в возрасте 6 месяцев сразу после обучения УРПИ вводили внутривенно блокатор М-холинергических рецепторов – скополамин («Across», США) в дозе 1,75 мг/кг, затем через 1, 3, 7, 14 суток воспроизводили рефлекс.

Изучение активности дофаминергической системы головного мозга проводили у животных из первого блока экспериментов в возрасте 3 и 6 месяцев в 2 этапа: путем моделирования нейрореплетической каталепсии введением блокатора Д2 – рецепторов дофамина – галоперидола (Gedeon Richter, Венгрия) и оценки моторной координации на установке «Rotarod». На первом этапе регистрировали время вертикализации животных после придания им заданного положения («поза лектора») через 60 и 120 минут после введения галоперидола в дозе 0,3 мг/кг (Воронина Т.А., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н. и др., 2012). На втором этапе до и через час после введения галоперидола в дозе 0,15 мг/кг тестировали моторную координацию крыс на установке «Rotarod» («UgoBasile», Италия). Скорость вращения дорожки составила 25 об/мин.

Изучение активности ГАМК-ергической системы головного мозга у потомства проводили в возрасте 3 и 6 месяцев на модели киндлинга, индуцируемого применением субконвульсивных доз коразола (20 мг/кг) («Sigma», Китай) и в тесте с использованием тиосемикарбазида в дозе 2 мг/кг («Sigma», Китай). Коразол вводили внутривентриально с интервалом 24 часа ежедневно до появления судорог, после однократного введения тиосемикарбазида регистрировали время наступления судорожной активности.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Для проверки выборок на нормальность распределения применяли W-критерий Шапиро-Уилка. Согласно характеру полученных данных использовали H-критерий Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана, q-критерий Ньюмена-Кейлса. Для сравнения данных с альтернативной формой реакции применялся точный критерий Фишера. Результаты представлены в виде $M \pm \sigma$, где M — выборочное среднее, σ — стандартное отклонение от среднего (Агафонов А.А., Пиотровский В.К., 1991; Гланц С., 1999, Реброва О.Ю., 2006).

В третьей главе представлены результаты изучения постнатального развития потомства от самок с ЭГ, получавших в течение гестации исследуемые соединения.

На 20-й день беременности в группе позитивного контроля уровень артериального давления (АД) не отличался от исходного, прирост концентрации белка составил 91,6 %, тогда как у самок с осложненной беременностью АД повысилось на 11,6% ($p \leq 0,05$), уровень белка – на 208,8% ($p \leq 0,05$). У самок с ЭГ, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид, практически не наблюдалось повышение АД относительно данных, полученных в 1-й день гестации, концентрация белка в моче была на 93,8% , 94% и 110,7% соответственно выше.

Среди крысят от самок без ЭГ случаи мертворождения и гибели после родов не наблюдались, тогда как в группе негативного контроля 25,6% ($p \leq 0,05$) потомства были рождены мертвыми и 29,7% ($p \leq 0,05$) погибли в постнатальном периоде. Исследуемые соединения и препарат сравнения способствовали снижению частоты случаев летальных исходов при рождении и после родов (Таблица 1).

При исследовании физического развития потомства было выявлено, что у животных от самок без ЭГ отмечается более раннее прорезывание резцов и открытие глаз. Данные представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 1 – Влияние исследуемых производных глутаминовой, гамма-аминомасляной кислот и сулодексида на родоразрешение самок с экспериментальным гестозом

| Группа животных | Кол-во крысят в группе (на момент родов) | Кол-во мертворожденных крысят | Кол-во крысят, погибших после рождения |
|---|--|-------------------------------|--|
| Потомство от самок позитивного контроля | 49 | - | - |
| Потомство от самок негативного контроля | 86 | 22(25,6%)* | 19 (29,7%)* |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 | 57 | 6 (10,5%)# | 9 (17,6%) |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 | 64 | 1 (1,6%)# | 11 (17,5%) |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид | 65 | 1 (1,5%)# | 3 (4,6%)# |

Таблица 2 – Сроки прорезывания резцов у потомства от самок с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят с прорезавшимися резцами | | | | | | | |
|--|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| | 6-е сутки | 7-е сутки | 8-е сутки | 9-е сутки | 10-е сутки | 11-е сутки | 12-е сутки | 13-е сутки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n = 49) | 4,1 | 12,4 | 53,1 | 87,8 | 100 | | | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 62) | 11,3 | 33,8 | 67,7 | 83,9 | 87,1* | 90,3 | 95,1 | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 8,2 | 26,5 | 61,2 | 91,8 | 100# | | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 60) | 21,7 | 40,7 | 76,3 | 96,6# | 100# | | | |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n = 64) | 18,8 | 54,7# | 78,1 | 87,5 | 100# | | | |

Таблица 3– Сроки открытия глаз у потомства от самок с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят, открывших глаза | | | | | | |
|--|---------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 13-е сутки | 14-е сутки | 15-е сутки | 16-е сутки | 17-е сутки | 18-е сутки | 19-е сутки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n = 49) | 0 | 8,2 | 40,8 | 85,7 | 95,9 | 100 | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 61) | 0 | 3,3 | 19,7 | 36,7* | 53,3* | 80* | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 4,0 | 18,4# | 44,9# | 63,2# | 100# | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 59) | 0 | 1,7 | 23,7 | 69,5# | 98,3# | 100# | |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n = 63) | 0 | 1,6 | 25,4 | 60,3# | 80,6# | 98,4# | 100 |

*-достоверно относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); #-достоверно относительно группы потомства от самок негативного контроля по точному критерию Фишера ($p \leq 0,05$).

У потомства от самок с ЭГ наблюдалось более медленное созревание сенсорно-двигательных рефлексов: вестибулярной, обонятельной, слуховой реакций, силы и тонуса мышц в сравнении с позитивным контролем (Таблицы 4-9).

Таблица 4 – Сроки формирования вестибулярной реакции в тесте «Отрицательный геотаксис» у потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят, выполнивших тест | | | | | |
|--|----------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| | 5-е су-тки | 6-е су-тки | 7-е су-тки | 8-е су-тки | 9-е су-тки | 10-е су-тки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n= 49) | 77,5 | 87,8 | 93,8 | 100 | | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 62) | 38,7* | 63,9* | 77,0* | 85,2* | 91,8 | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 67,3# | 79,6 | 89,8 | 100# | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 60) | 80,0# | 86,7# | 90 | 100# | | |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n= 64) | 43,8 | 79,7 | 90,6# | 95,3 | 100# | |

Таблица 5 – Сроки формирования вестибулярной реакция в тесте «Избегание обрыва» у потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят, выполнивших тест | | | | |
|--|----------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | 6-е сутки | 7-е сутки | 8-е сутки | 9-е сутки | 10-е сутки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n = 49) | 89,8 | 100 | | | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 61) | 55,7* | 81,9* | 86,8 | 93,5 | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 75,5# | 89,8 | 100# | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 60) | 80# | 88,1 | 98,3# | 100 | |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n= 64) | 87,5# | 100# | | | |

Таблица 6 – Сроки формирования реакции на акустический стимул у потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят, выполнивших тест | | | | | |
|--|----------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 8-е су-тки | 9-е су-тки | 10-е су-тки | 11-е су-тки | 12-е су-тки | 13-е су-тки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n= 49) | 77,5 | 93,8 | 100 | | | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 61) | 31,1* | 37,7* | 44,3* | 80,2 | 83,6 | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 93,8# | 95,9 | 100# | | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 59) | 67,8# | 91,5* | 98,3# | 100# | | |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n= 64) | 56,2 | 81,5# | 98,4# | 100# | | |

Таблица 7 – Сроки формирования обонятельной реакции у потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят, выполнивших тест | | | | | | | |
|--|----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 10-е су-тки | 11-е су-тки | 12-е су-тки | 13-е су-тки | 14-е су-тки | 15-е су-тки | 16-е су-тки | 17-е су-тки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n = 49) | 18,3 | 51,0 | 87,7 | 95,9 | 100 | | | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 61) | 26,2 | 34,4 | 52,4* | 57,3* | 65* | 83,3 | 98,3 | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 22,4 | 40,8 | 60,4 | 77,1# | 83,3# | 100# | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 59) | 20,3 | 38,9 | 66,1 | 74,5 | 86,4# | 93,2 | 100 | |

| | | | | | | | | |
|--|------|------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|--|--|
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n= 63) | 33,4 | 44,4 | 73,0 [#] | 88,8 [#] | 96,8 [#] | 100 [#] | | |
|--|------|------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|--|--|

Таблица 8 – Формирование навыков ползания у потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят, выполнивших тест | | | | | |
|--|----------------------------|-------------------|------------|------------|------------|------------|
| | 9-е сутки | 10-е сутки | 11-е сутки | 12-е сутки | 13-е сутки | 14-е сутки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n = 49) | 95,9 | 100 | | | | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 61) | 40,9 [*] | 63,9 [*] | 83,6 | 91,8 | 96,7 | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 67,3 [#] | 87,8 [#] | 95,9 | 100 | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 59) | 76,7 [#] | 100 [#] | | | | |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n= 63) | 88,9 [#] | 100 [#] | | | | |

Таблица 9 – Формирование вестибулярной функции в тесте «Перевоорачивание в свободном падении» у потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

| Группа животных | % крысят, выполнивших тест | | | |
|--|----------------------------|-------------------|------------|------------|
| | 17-е сутки | 18-е сутки | 19-е сутки | 20-е сутки |
| Потомство от самок позитивного контроля (n = 49) | 97,9 | 100 | | |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 60) | 66,7 [*] | 78,3 [*] | 86,7 | 100 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 49) | 97,9 [#] | 100 [#] | | |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 59) | 86,4 [#] | 100 [#] | | |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n= 62) | 96,8 [#] | 100 [#] | | |

*-достоверно относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); # - достоверно относительно группы потомства от самок негативного контроля по точному критерию Фишера ($p \leq 0,05$).

Продолжительность удержания на горизонтальной сетке в группе потомства от самок с ЭГ была на 23,2 % ($p \leq 0,05$) меньше, чем у животных позитивного контроля. В опытных группах №1 и №3 показатель был достоверно выше, чем у крысят от самок с осложненной беременностью. В группе животных, рожденных самками с ЭГ, получавшими в течение гестации соединение РГПУ-242, время удержания на сетке было незначительно больше, чем у негативного контроля (Рисунок 1).

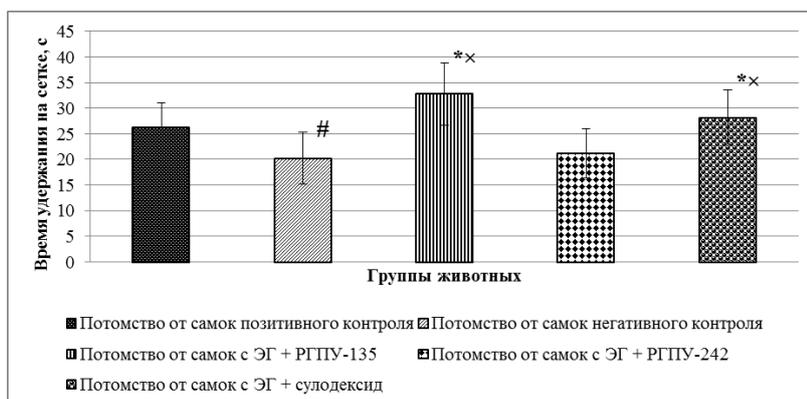


Рисунок 1 – Время удержания на горизонтальной сетке потомства от самок с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации

– достоверно относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); * – достоверно относительно группы потомства от самок негативного контроля ($p \leq 0,05$); × – достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+ РГПУ-242 по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$).

× – достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+ РГПУ-242 по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$).

При исследовании психического развития потомства в тесте «Открытое поле» на 20-е, 40-е сутки и в возрасте 6 месяцев выявлено, что у помета от самок с ЭГ снижена локомоторная и ориентировочно-исследовательская активность, отмечается уменьшение времени, проведенного в центральной зоне и количество стоек в ней, увеличение числа фекальных болюсов и ЛП выхода из центральной зоны по сравнению с группой потомства от самок с неосложненной беременностью. Это свидетельствует о повышенном уровне тревожности и низкой скорости адаптации к новой обстановке у животных негативного контроля. В опытных группах №2 и №3 наблюдается увеличение локомоторной, ориентировочно-исследовательской активности, снижение числа актов дефекации и ЛП выхода из центральной зоны по сравнению с негативным контролем (Таблица 10).

Таблица 10 – Параметры поведения потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации (тест «Открытое поле», возраст – 40 дней). М±σ

| Группы животных | ГДА | ОИА | ЛП выхода из ЦЗ, с | Время нахождения в ЦЗ, с | Стойки в ЦЗ | Груминг короткий | Груминг длительный | Болюсы |
|--|------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|-------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| Потомство от самок позитивного контроля (n= 48) | 47,6±9,5 | 19,5±4,8 | 3,3±1,1 | 5,3±1,6 | 0,3±0,5 | 2,5±1,2 | 0,3±0,5 | 2,0±1,0 |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 58) | 35,5±8,7* | 16,7±2,6* | 6,5±1,9* | 3,1±0,8* | 0,1±0,4 | 2,1±0,9 | 0,2±0,4 | 2,6±0,7* |
| Потомство от самок с ЭГ+РГПУ-135 (n = 46) | 38,5±7,4 | 16,3±2,6 | 7,1±2,2 | 2,2±0,9 [#] | 0,02±0,1 | 2,3±0,9 | 0,2±0,4 | 1,9±0,6 [#] |
| Потомство от самок с ЭГ+РГПУ-242 (n = 47) | 46,5±10,9 [#] | 19,3±2,8 [#] | 4,5±1,9 ^{#^} | 3,5±1,3 [^] | 0,3±0,8 | 1,5±0,6 ^{#^} | 0,2±0,4 | 2,1±0,3 [#] |
| Потомство от самок с ЭГ+сулодексид (n= 52) | 42,3±9,3 [#] | 18,7±4,4 | 3,3±1,7 ^{#^} | 2,4±0,4 ^{#x} | 0,1±0,3 | 3,1±0,9 ^{#^} | 0,3±0,5 | 1,9±0,3 [#] |

* - достоверно относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); [#] - достоверно относительно группы потомства от самок негативного контроля ($p \leq 0,05$); [^] - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-135 ($p \leq 0,05$); ^x - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-242 по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$),

ГДА – горизонтальная двигательная активность, ОИА – ориентировочно-исследовательская активность, ЦЗ – центральная зона, ЛП – латентный период.

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в возрасте 2 месяцев было отмечено, что крысята, рожденные от самок с ЭГ, на 23,6% ($p \leq 0,05$) меньше времени проводили в открытых рукавах установки в сравнении с группой позитивного контроля. Число стоек и свешиваний с них было на 20,2 и 29,1% ($p \leq 0,05$) соответственно меньше. Это свидетельствует о повышенном уровне тревожности потомства от самок с ЭГ и согласуется с результатами, полученными в тесте «Открытое поле». У потомства от самок опытных групп №2 и №3 время нахождения в открытых рукавах установки, число стоек и свешиваний превышало показатели негативного контроля, что свидетельствует о снижении тревожности у них (Таблица 11). Аналогичные данные были получены при проведении ПКЛ в возрасте 6 месяцев.

Таблица 11 - Параметры поведения потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации (тест «Приподнятый крестообразный лабиринт», возраст – 2 месяца). М±σ

| Группы животных | ЛП вы- хода из центра | Количе- ство заходов в ОР | Время в ОР, с | Стойки в ОР | Свеши- вания в ОР | Количе- ство заходов в ЗР | Время в ЗР, с | Стойки в ЗР |
|--|-----------------------------|------------------------------------|---------------------------|----------------|-------------------------|------------------------------------|----------------------------|----------------------|
| Потомство от самок позитивного контроля (n = 48) | 4,1±1,3 | 2,6±0,7 | 50,4±11,6 | 0,5±0,5 | 5,5±1,5 | 3,4±1,0 | 105,5±9,9 | 3,9±1,2 |
| Потомство от самок негативного контроля (n = 49) | 4,8±1,8 | 3,1±0,9 ^{*^} | 38,5±8,4 ^{**} | 0,4±0,5 | 3,9±1,5 [*] | 3,9±0,9 [*] | 116,5±13,9 ^{**} | 4,2±1,6 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 39) | 4,2±1,6 | 2,3±0,6 | 37,5±5,2 | 0,6±0,5 | 3,9±1,2 | 3,7±0,5 | 118,6±7,2 | 5,5±1,6 [#] |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 42) | 5,4±1,5 [^] | 3,3±1,1 [^] | 52,6±11,7 ^{##^^} | 0,6±0,5 | 5,0±1,8 ^{##^} | 3,7±0,9 | 99,4±12,7 ^{##^^} | 4,5±1,5 [^] |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n = 51) | 5,4±1,5 [^] | 2,9±0,9 [^] | 45,6±13,9 ^{##^x} | 0,5±0,5 | 4,5±1,7 | 3,7±1,3 | 108,7±22,8 ^{##^x} | 5,2±1,9 |

^{*} - достоверно по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана, ^{**} - по критерию Ньюмена-Кейлса относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); [#] - достоверно по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана, ^{##} - по критерию Ньюмена-Кейлса относительно группы потомства от самок негативного контроля ($p \leq 0,05$); [^] достоверно по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана, ^{^^} - по критериям Ньюмена-Кейлса относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-135 ($p \leq 0,05$); ^x - достоверно по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана, ^{##^x} - по критерию Ньюмена-Кейлса относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-242 ($p \leq 0,05$),

ЗР – закрытые рукава, ОР – открытые рукава, ЛП – латентный период.

Таким образом, исследуемые соединения, в большей степени, РГПУ-242 при введении их самкам с ЭГ в период гестации способствуют снижению уровня тревожности, улучшению процессов адаптации у потомства во все сроки наблюдения.

В тесте УРПИ при обучении и проверке сохранности памятного следа в возрасте 2 и 6 месяцев было обнаружено нарушение памяти у потомства от самок с ЭГ, что выражалось в уменьшении латентного периода (ЛП) захода в темную камеру (ТК), увеличении количества заходов, времени, проведенного в ней и числа заходящих на этапе воспроизведения по сравнению с позитивным контролем. В возрасте 2 месяцев заметно выраженное влияние на процессы хранения и воспроизведения информации было отмечено в группе потомства от самок с ЭГ, получавших в течение гестации соединение РГПУ-242, однако в 6 месяцев оно нивелировалось. В опытной группе №1 при проведении теста УРПИ на 2-м месяце постнатального периода, ЛП захода в ТК и количество заходов при воспроизведении навыка не отличалось от группы негативного контроля, в возрасте 6 месяцев показатели памяти улучшились. В опытной группе №3 по результатам теста УРПИ не было выявлено отличий от потомства самок с ЭГ (Таблица 12).

В тесте «Экстраполяционное избавление» в возрасте 2 и 6 месяцев потомство от самок без ЭГ быстрее решало задачу избавления от аверсивной среды, что выражалось в уменьшении ЛП подныривания под края цилиндра и увеличении количества выплывших животных по сравнению с негативным контролем. В опытных группах №1 и №2 животные показали более высокую скорость ориентировочных реакций, чем потомство от самок с осложненной беременностью (Таблица 13).

Таблица 12 – Параметры поведения потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации (тест «Условная реакция пассивного избегания», возраст – 2 месяца)

| Время | Показатели | Группа (M±σ) | | | | |
|----------------------------|--------------------------|--|--|---|---|---|
| | | Потомство от самок позитивного контроля (n = 37) | Потомство от самок негативного контроля (n = 45) | Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n = 34) | Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n = 38) | Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n = 55) |
| Обучение | ЛП захода в ТК, с | 38,6±10,1 | 39,8±9,6 | 50,5±13,4 | 44,2±9,7 | 34,7±7,4 |
| Воспроизведение 1-е сутки | ЛП захода в ТК, с | 180,0 | 180,0 | 175,1±6,1* | 180,0 [^] | 177,3±7,1 ^{#x} |
| | Время в ТК, с | 0 | 0 | 3,1±1,2* | 0 [^] | 2,0±0,9 ^{#x} |
| | Количество заходов | 0 | 0 | 0,09±0,3 | 0 | 0,03±0,2 |
| | % крысят, заходящих в ТК | 0 | 0 | 6 | 0 | 2 |
| Воспроизведение 3-и сутки | ЛП захода в ТК, с | 178,4±7,3 | 170,0±25,3* | 166,5±19,5 | 180,0 ^{#^} | 169,1±19,3 ^{#x} |
| | Время в ТК, с | 0,4±0,4 | 6,2±2,2* | 6,6±1,5 | 0 ^{#^} | 10,2±4,0 ^{#x} |
| | Количество заходов | 0,1±0,3 | 0,1±0,3 | 0,09±0,3 | 0 | 0,1±0,5 |
| | % крысят, заходящих в ТК | 5 | 7 | 9 | 0 | 7 |
| Воспроизведение 7-е сутки | ЛП захода в ТК, с | 176,2±16,5 | 166,6±22,8 | 167,7±21,4 | 174,6±6,6 [#] | 159,2±30,6 ^{#x} |
| | Время в ТК, с | 1,8±0,4 | 6,8±1,9* | 8,1±1,9 | 0,2±0,4 ^{#^} | 17,1±4,0 ^{#x} |
| | Количество заходов | 0,1±0,3 | 0,2±0,4 | 0,2±0,4 | 0,1±0,2 | 0,2±0,4 |
| | % крысят, заходящих в ТК | 5 | 9 | 9 | 5 | 18 |
| Воспроизведение 14-е сутки | ЛП захода в ТК, с | 169,8±21,0 | 162,9±30,7 | 156,1±24,5 | 169,3±15,1 | 141,6±35,9 [#] |
| | Время в ТК, с | 3,9±1,6 | 12,9±4,2* | 14,9±2,5 | 6,9±1,9 ^{#^} | 30,2±9,8 ^{#x} |
| | Количество заходов | 0,1±0,3 | 0,2±0,4 | 0,3±0,5 | 0,2±0,4 | 0,5±0,6 |
| | % крысят, заходящих в ТК | 8 | 11 | 18 | 7 | 25 |

* - достоверно относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); # - достоверно относительно группы потомства от самок негативного контроля ($p \leq 0,05$); ^ - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-135 ($p \leq 0,05$); x - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-242 по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$).

ТК – темная камера.

Результаты, полученные в ТЭИ, согласуются с УРПИ и свидетельствуют о нарушении когнитивных функций у потомства от самок с ЭГ. Применение соединений РГПУ-135, РГПУ-242 в период гестации у самок с осложненной беременностью способствует ограничению негативного влияния ЭГ на формирование нервной системы потомства, что выражается в улучшении когнитивных функций у них в постнатальном периоде по сравнению с негативным контролем.

При исследовании функционирования ГАМК-ергической системы головного мозга было обнаружено, что после введения тиосемикарбазида и в тесте киндлинга, индуцированного применением коразола, наступление судорог у животных от самок с ЭГ происходило быстрее, чем в группе позитивного контроля, что свидетельствует о наличии у них нарушений в ГАМК-ергической системе. В опытных группах №1, №2 и №3 время появления судорог было несколько отсрочено по сравнению с негативным контролем.

Исследование функционирования центральной холинергической системы с использованием методики скополаминовой амнезии в тесте УРПИ показало, что потомство от самок с ЭГ быстрее забывает о нанесенном болевом раздражении и заходит в «опасный отсек», что свидетельствует о нарушении функционирования этой нейромедиаторной системы. У потомства опытных групп №1, №2 и №3 ЛП захода в ТК выше, чем у негативного контроля и на 1-е, и на 14-е сутки воспроизведения.

Таблица 13 - Параметры поведения потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид с 7-го по 21-й день гестации (тест «Экстраполяционное избавление», возраст – 2 месяца)

| Время | Показатели | Группа (M±σ) | | | | |
|----------------------------|-----------------------|--|--|---|---|---|
| | | Потомство от самок позитивного контроля (n=48) | Потомство от самок с негативного контроля (n=53) | Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-135 (n=42) | Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n=48) | Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n=60) |
| Обучение | ЛП подныривания, с | 65,6±14,3 | 110,9±22,4* | 95,6±15,8 | 72,4±14,3 ^{#^} | 94,6±9,0 ^{#x} |
| | % крысят, решивших ЭЗ | 79 | 49 | 64 | 73 | 55 |
| Воспроизведение 1-е сутки | ЛП подныривания, с | 55,2±8,2 | 88,5±11,3* | 65,9±7,4 [#] | 71,6±12,1 ^{#^} | 83,1±10,1 ^{^x} |
| | % крысят, решивших ЭЗ | 79 | 59 | 71 | 71 | 65 |
| Воспроизведение 3-и сутки | ЛП подныривания, с | 36,9±9,4 | 82,1±11,1* | 56,9±6,5 [#] | 61,7±9,9 [#] | 59,3±11,6 [#] |
| | % крысят, решивших ЭЗ | 85 | 57 | 74 | 71 | 73 |
| Воспроизведение 7-е сутки | ЛП подныривания, с | 33,2±6,3 | 62,0±12,4* | 42,9±5,8 [#] | 44,1±7,2 [#] | 54,0±8,6 ^{^x} |
| | % крысят, решивших ЭЗ | 88 | 71 | 81 | 79 | 73 |
| Воспроизведение 14-е сутки | ЛП подныривания, с | 23,4±5,8 | 52,2±11,2* | 42,3±7,8 [#] | 35,4±5,4 [#] | 48,3±10,3 ^{^x} |
| | % крысят, решивших ЭЗ | 94 | 78 | 83 | 88 | 78 |

* - достоверно относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); # - достоверно относительно группы потомства от самок негативного контроля ($p \leq 0,05$); ^ - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-135 ($p \leq 0,05$); x - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-242 по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$),

ЛП – латентный период, ЭЗ – экстраполяционная задача.

Исследование функционирования дофаминергической системы головного мозга показало, что после введения галоперидола у потомства от самок с ЭГ наблюдается увеличение времени нахождения в «позе лектора» на 10 % и снижение расстояния, пройденного на установке «Rotarod» на 18,9% и по сравнению с потомством, рожденным самками с неосложненной беременностью. Это свидетельствует о снижении тонуса дофаминергической системы у потомства крыс с ЭГ. В группе животных, рожденных самками с ЭГ, получавшими в течение гестации соединение РГПУ-242, после введения галоперидола время нахождения в заданном вертикальном положении было на 9,1 % меньше, а расстояние, пройденное на вращающейся дорожке, на 88,1 % больше, чем у потомства от крыс с осложненной беременностью. В опытных группах №1 и №3 показатели значительно не отличались от негативного контроля (Рисунок 2).

Таким образом, введение исследуемых соединений самкам с ЭГ в период гестации позволяет корректировать негативное воздействие патологии беременности на функционирование центральных ГАМК-, дофамин- и холинергической систем головного мозга потомства в постнатальном периоде.

При проведении глюкозотолерантного теста было обнаружено, что у потомства от крыс с ЭГ возвращение концентрации глюкозы в крови к исходным показателям после нагрузки происходит более медленно в сравнении с позитивным контролем в

возрасте 3 и 6 месяцев, что может свидетельствовать о нарушении углеводного обмена. Изучаемые соединения не влияли на показатели теста.

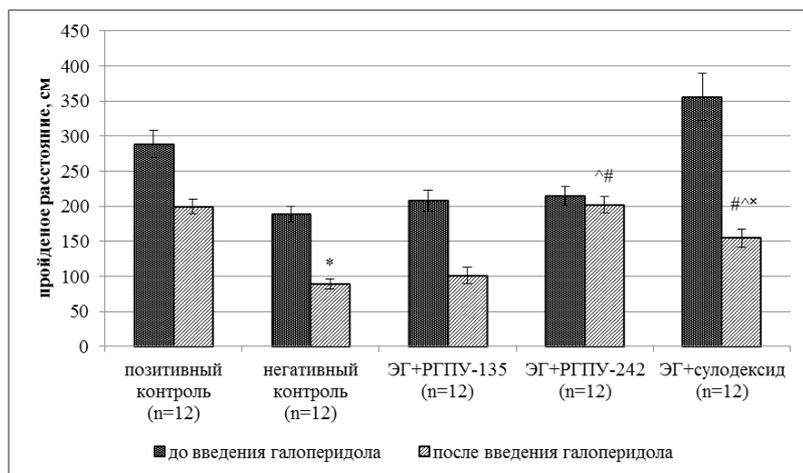


Рисунок 2 – Изменение расстояния, пройденного потомством от крыс с экспериментальным гестозом на установке Rotarod после введения галоперидола в дозе 0,15 мг/кг (возраст потомства– 3 месяца)

* - достоверно относительно группы позитивного контроля ($p \leq 0,05$); # - достоверно относительно группы негативного контроля ($p \leq 0,05$); ^ - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-135 ($p \leq 0,05$); * - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-242 по критерию Ньюмена-Кейлса ($p \leq 0,05$).

При исследовании липидного обмена не было обнаружено существенных различий между группами.

У животных негативного контроля отмечается нарушение выделительной функции почек. У потомства, рожденного самками с ЭГ, получавшими в течение гестации соединения РГПУ-242 и сулодексид, диурез после введения водной нагрузки начинался быстрее, и процент выведенной жидкости был выше, чем у негативного контроля (Таблица 14).

Таблица 14 – Исследование выделительной функции почек в тесте «Водная нагрузка» потомства от самок с экспериментальным гестозом, получавших с 7-го по 21-й день гестации, соединения РГПУ-135, РГПУ-242 и сулодексид (возраст- 6 месяцев)

| Группа | V введенной воды, мл (M±σ) | V выделенной мочи, мл (M±σ) | | | | | | % выведенной жидкости |
|---|----------------------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------|-----------------------|
| | | 10 мин | 20 мин | 30 мин | 60 мин | 90 мин | 120 мин | |
| Потомство от самок позитивного контроля (n=6) | 6,7±1,1 | 0,08±0,06 | 0,2±0,1 | 1,3±0,4 | 3,1±1,1 | 0,9±0,3 | 0,2±0,1 | 83 |
| Потомство от самок негативного контроля (n=6) | 6,3±2,2 | 0* | 0 | 0,7±0,3* | 1,8±0,5* | 1,4±0,2* | 0,6±0,2 | 70 |
| Потомство от самок с ЭГ+ РГПУ-135 (n=6) | 6,5±2,1 | 0 | 0,06±0,04 | 1,3±0,5 [#] | 1,9±0,7 | 0,8±0,2 [#] | 0,2±0,08 | 67 |
| Потомство от самок с ЭГ + РГПУ-242 (n=6) | 6,6±1,6 | 0 | 0,6±0,2 [#] | 0,7±0,3 | 3,0±0,5 ^{#^} | 1,0±0,5 | 0,7±0,5 | 91 |
| Потомство от самок с ЭГ + сулодексид (n=6) | 5,9±0,7 | 0 | 0,5±0,2 [#] | 1,1±0,2 | 2,3±0,4 | 0,7±0,2 [#] | 0,3±0,1 | 80 |

* - достоверно относительно группы потомства от самок позитивного контроля ($p \leq 0,05$); # - достоверно относительно группы потомства от самок негативного контроля ($p \leq 0,05$); ^ - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-135 ($p \leq 0,05$); * - достоверно относительно группы потомства от самок с ЭГ+РГПУ-242 по критерию Ньюмена-Кейлса ($p \leq 0,05$).

Таким образом, животные, рожденные самками с ЭГ, отстают в физическом и психическом развитии от позитивного контроля. Поэтому целесообразным явилось изучение влияния исследуемых соединений на когнитивные функции и эмоциональную активность потомства от самок с осложненной беременностью при введении их в постнатальном периоде.

В четвертой главе представлены результаты исследования влияния соединений РГПУ-135, РГПУ-238, РГПУ-242 на психическое развитие потомства от самок с ЭГ при введении их постнатально.

Под действием соединений РГПУ-238 и РГПУ-242 и препарата сравнения пир-ацетама в тесте «Открытое поле» достоверно увеличивалось суммарное количество стоек и заглядываний в отверстия экспериментальной установки, а также снижался ЛП выхода из центральной зоны. Таким образом, можно предположить, что исследуемые соединения обладают слабым анксиолитическим эффектом, снижают уровень тревожности, повышают скорость адаптации к новой обстановке (Таблица 15).

Таблица 15 – Параметры поведения потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавшего соединения РГПУ-135, РГПУ-238, РГПУ-242, пир-ацетам и пантогам постнатально (тест «Открытое поле», возраст – 6 месяцев). М±σ

| Группы животных | ГДА | ОИА | ЛП выхода из ЦЗ, с | Время нахождения в ЦЗ, с | Кол-во выходов в ЦЗ | Стойки в ЦЗ | Груминг короткий | Болюсы |
|-------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|-------------|-----------------------|----------------------|
| Позитивный контроль (n=24) | 30,3±5,8 | 10,1±1,6 | 3,6±1,6 | 4,1±1,4 | 1,0±0,5 | 0,5±0,5 | 1,2±0,5 | 2,1±0,7 |
| Негативный контроль (n=25) | 22,1±8,7* | 5,2±1,9* | 11,6±2,5* | 3,7±1,4 | 0,8±0,4 | 0 | 0,3±0,5* | 0,7±0,4* |
| Потомство + РГПУ-135 (n=21) | 13,9±2,8 [#] | 9,1±2,2 [#] | 11,1±1,6 | 6,9±1,7 [#] | 0,8±0,4 | 0,04±0,2 | 1,1±0,3 [#] | 0,8±0,4 |
| Потомство + РГПУ-238 (n=21) | 23,8±4,3 [^] | 10,2±1,7 [#] | 5,0±0,3 ^{#^} | 4,6±0,5 | 1,0±0,2 | 0,1±0,3 | 1,8±0,6 ^{#^} | 1,0±0,2 |
| Потомство + РГПУ-242 (n=22) | 24,3±4,8 [^] | 10,2±1,3 [#] | 4,2±0,5 ^{#^} | 1,2±0,4 ^{#^x} | 0,5±0,5 | 0,1±0,3 | 0,7±0,5 ^x | 1,3±0,4 [^] |
| Потомство + пир-ацетам (n=17) | 25,0±4,1 [^] | 12,5±2,4 ^{#^} | 1,8±0,6 ^{#^x®} | 3,5±0,7 ^{^®} | 0,7±0,5 | 0,2±0,4 | 1,5±0,5 ^{#®} | 1,2±0,6 |
| Потомство + пантогам (n=17) | 18,2±3,8 ^{>} | 8,2±1,6 ^{>} | 3,5±0,6 ^{#^} | 1,6±0,4 ^{#^x} | 0,6±0,5 | 0 | 1,4±0,5 [#] | 0,6±0,5 |

* - достоверно относительно группы позитивного контроля ($p \leq 0,05$); [#] - достоверно относительно группы негативного контроля ($p \leq 0,05$); [^] - достоверно относительно группы «Потомство+РГПУ-135» ($p \leq 0,05$); ^x - достоверно относительно группы «Потомство+РГПУ-238» ($p \leq 0,05$); [®] - достоверно относительно группы «Потомство+РГПУ-242» ($p \leq 0,05$); [>] - достоверно относительно группы «Потомство+пир-ацетам» по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$);

ГДА – горизонтальная двигательная активность, ОИА – ориентировочно-исследовательская активность, ЛП – латентный период, ЦЗ – центральная зона.

Под влиянием соединения РГПУ-242 в тесте ПКЛ в возрасте 2 месяцев происходило снижение уровня тревожности у крысят от самок с ЭГ, что выражалось в увеличении времени нахождения в открытых рукавах установки, а также числа стоек в них по сравнению с негативным контролем. Результаты согласуются с данными, полученными в тесте «Открытое поле». В опытных группах потомства от самок с ЭГ,

получавших постнатально РГПУ-135, РГПУ-238, пирацетам и пантогам, показатели достоверно не отличались от потомства крыс с осложненной беременностью (Таблица 16).

Таблица 16 – Параметры поведения потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавшего соединения РГПУ-135, РГПУ-238, РГПУ-242, пирацетам и пантогам постнатально (тест «Приподнятый крестообразный лабиринт», возраст – 2 месяца). $M \pm \sigma$

| Группы животных | ЛП выхода из центра | Количество заходов в ОР | Время в ОР, с | Стойки в ОР | Сवेशивания в ОР | Количество заходов в ЗР | Время в ЗР, с | Выглядывания из ЗР |
|------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|----------------------|
| Позитивный контроль (n=26) | 4,3±1,4 | 1,4±0,5 | 24,4±4,8 | 0,3±0,4 | 3,2±1,3 | 2,7±1,0 | 138,9±6,1 | 1,9±0,2 |
| Негативный контроль (n=23) | 5,4±2,3 | 1,7±0,4 | 19,3±5,3* | 0,2±0,4 | 1,9±0,4* | 3,3±0,9 | 142,3±5,7 | 3,8±0,6* |
| Потомство + РГПУ-135 (n=23) | 7,8±1,8 [#] | 1,3±0,5 | 18,8±3,8 | 0,3±0,4 | 1,3±0,5 | 2,4±0,7 [#] | 139,9±5,1 | 3,3±0,6 |
| Потомство + РГПУ-238 (n=21) | 3,4±0,6 ^{#^} | 1,0±0,3 [#] | 18,9±4,7 | 0,04±0,2 | 1,5±0,5 | 2,2±0,5 [#] | 151,8±4,8 ^{#^} | 2,9±0,7 [#] |
| Потомство + РГПУ-242 (n=23) | 5,8±1,5 [×] | 1,6±0,5 [×] | 29,5±7,4 ^{#^×} | 0,7±0,5 [×] | 1,9±0,7 | 2,5±0,7 | 130,6±7,5 ^{#^×} | 3,3±0,6 |
| Потомство + пирацетам (n=20) | 2,4±0,5 ^{#^®} | 1,8±0,7 [×] | 18,7±4,3 [®] | 0,3±0,5 | 2,1±0,6 [^] | 2,8±0,9 | 146,7±5,4 [®] | 3,7±0,9 |
| Потомство + пантогам (n=20) | 6,4±1,5 ^{×>} | 1,5±0,5 | 18,7±4,2 [®] | 0,2±0,4 | 1,4±0,5 ^{>} | 2,7±0,7 | 138,1±5,6 ^{×>} | 3,8±1,1 |

* - достоверно относительно группы позитивного контроля ($p \leq 0,05$); [#] - достоверно относительно группы негативного контроля ($p \leq 0,05$); [^] - достоверно относительно группы «Потомство+РГПУ-135» ($p \leq 0,05$); [×] - достоверно относительно группы «Потомство+РГПУ-238» ($p \leq 0,05$); [®] - достоверно относительно группы «Потомство+РГПУ-242» ($p \leq 0,05$); [>] - достоверно относительно группы «Потомство+пирацетам» по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$),

ЗР – закрытые рукава, ОР – открытые рукава.

Применение соединений РГПУ-135 и РГПУ-238 в постнатальном периоде способствовало улучшению памяти у потомства от самок с ЭГ, что выражалось в увеличении ЛП захода в ТК при воспроизведении навыка, снижении количества заходов и числа заходящих в «опасный отсек» в тесте УРПИ по сравнению с животными группы негативного контроля в возрасте 2 месяцев (Таблица 17). При проведении теста в 6 месяцев выявлено, что наиболее выраженное влияние на память оказывало соединение РГПУ-238.

Таблица 17 – Параметры поведения потомства от крыс с экспериментальным гестозом, получавшего соединения РГПУ-135, РГПУ-238, РГПУ-242, пирацетам и пантогам постнатально (тест «Условная реакция пассивного избегания», возраст – 2 месяца)

| Время | Показатели | Группа (M± σ) | | | | | | |
|----------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | Позитивный контроль (n=22) | Негативный контроль (n=19) | Потомство + РГПУ-135 (n=18) | Потомство + РГПУ-238 (n=18) | Потомство + РГПУ-242 (n=13) | Потомство + пирацетам (n=18) | Потомство + пантогам (n=14) |
| Обучение | ЛП захода в ТК, с | 43,3±9,9 | 61,7±8,7* | 62,4±9,4 | 51,0±8,0 | 53,2±6,1 | 49,5±6,3 [#] | 72,0±7,6 ^{®>} |
| Воспроизведение 1-е сутки | ЛП захода в ТК, с | 163,0±9,1 | 157,2±9,0 | 180 [#] | 174,6±9,5 [#] | 167,0±9,4 [^] | 170,7±10,5 ^{#^} | 176,4±5,1 [#] |
| | Время в ТК, с | 12,3±2,8 | 17,8±3,6 | 0 [#] | 0,2±0,4 [#] | 9,9±1,4 ^{^x} | 9,3±1,9 ^{#^x} | 2,1±0,3 [#] |
| | Количество заходов | 0,3±0,4 | 0,4±0,5 | 0 | 0,1±0,2 | 0,2±0,4 | 0,1±0,2 | 0,2±0,4 |
| | % крысят, заходящих в ТК | 9 | 15 | 0 | 5 | 15 | 5 | 14 |
| Воспроизведение 3-и сутки | ЛП захода в ТК, с | 150,6±11,9 | 144,3±8,5 | 154,1±9,6 | 160,9±11,5 [#] | 120,2±6,7 ^{#x} | 133,6±8,2 ^{^x} | 165,4±14,1 ^{#®>} |
| | Время в ТК, с | 23,2±4,3 | 29,7±3,8 | 10,7±2,6 [#] | 4,8±1,5 [#] | 35,3±5,7 ^{^x} | 36,9±5,9 ^{^x} | 0,6±0,5 ^{#®>} |
| | Количество заходов | 0,3±0,4 | 0,5±0,5 | 0,3±0,5 | 0,4±0,5 | 1,2±0,4 ^{^x} | 0,7±0,5 | 0,1±0,3 [®] |
| | % крысят, заходящих в ТК | 18 | 21 | 11 | 11 | 38 | 33 | 14 |
| Воспроизведение 7-е сутки | ЛП захода в ТК, с | 99,6±10,6 | 113,2±4,4 | 156,6±8,3 [#] | 146,7±7,0 [#] | 127,9±7,2 ^x | 96,6±6,8 ^{^x} | 144,4±8,2 ^{#>} |
| | Время в ТК, с | 72,0±8,5 | 43,6±4,7* | 16,2±2,6 [#] | 10,8±2,1 [#] | 41,2±5,3 | 71,0±7,7 ^{^x} | 18,7±2,2 ^{>} |
| | Количество заходов | 0,7±0,5 | 0,8±0,4 | 0,4±0,5 | 0,6±0,5 | 0,6±0,5 | 1,2±0,4 [^] | 0,6±0,5 |
| | % крысят, заходящих в ТК | 54 | 52 | 22 | 22 | 38 | 50 | 21 |
| Воспроизведение 14-е сутки | ЛП захода в ТК, с | 59,6±7,3 | 73,3±7,7 | 118,7±7,9 [#] | 127,7±6,7 [#] | 64,5±8,5 ^{^x} | 66,4±7,3 ^{^x} | 116,9±6,7 ^{®>} |
| | Время в ТК, с | 109,3±7,8 | 95,3±11,0 | 41,6±6,7 [#] | 40,4±6,6 [#] | 90,9±6,4 ^{^x} | 75,1±7,2 | 34,9±4,9 ^{#®>} |
| | Количество заходов | 0,8±0,4 | 1,4±0,5 | 0,8±0,4 | 0,6±0,5 [#] | 1,1±0,3 | 1,6±0,6 ^{^x} | 0,9±0,3 |
| | % крысят, заходящих в ТК | 72 | 73 | 44 | 33 | 76 | 72 | 42 |

* - достоверно относительно группы позитивного контроля ($p \leq 0,05$); # - достоверно относительно группы негативного контроля ($p \leq 0,05$); ^ - достоверно относительно группы «Потомство + РГПУ-135» ($p \leq 0,05$); x - достоверно относительно группы «Потомство + РГПУ-238» ($p \leq 0,05$); ® - достоверно относительно группы «Потомство + РГПУ-242» ($p \leq 0,05$); > - достоверно относительно группы «Потомство + пирацетам» по критериям Крускала-Уоллиса, Сигела-Кастеллана ($p \leq 0,05$);

ЛП – латентный период, ТК – темная камера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате экспериментального гестоза, вызванного заменой питьевой воды на 1,8% раствор хлорида натрия с 7-го по 21-й день гестации, у крыс – самок наблюдается повышение АД, концентрации белка в моче, увеличение числа мертворожденных и гибели крысят постнатально. У помета группы негативного контроля наблюдается отставание в физическом развитии, скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов, снижение локомоторной, ориентировочно-исследовательской активности,

повышение тревожности, нарушение когнитивных функций. Соединение РГПУ-135 и, в большей степени, РГПУ-242 при введении их самкам в период гестации препятствуют повышению АД, концентрации белка в моче, ограничивают повреждающее действие ЭГ на плод, способствуя уменьшению частоты случаев мертворождений и послеродовой гибели, улучшению показателей физического развития, предупреждая нарушение когнитивных функций, снижение локомоторной, ориентировочно-исследовательской активности, повышение уровня тревожности у потомства в постнатальном периоде. Также выявлено, что при применении постнатально соединения РГПУ-135, и, в большей степени, РГПУ-238 оказывают позитивное влияние на процессы формирования и хранения памятного следа, а РГПУ-242 снижает степень тревожности у потомства от самок с ЭГ. Гравидопротекторное и ноотропное действие новых производных ГАМК и глутамата, вероятно, связано с их эндотелиопротекторной, антигипоксической, антикоагулянтной и антиагрегантной активностями, показанными в ранее проведенных исследованиях (Бородкина Л.Е., 2009; Перфилова В.Н., 2009; Робертус А.И., 2010; Воронков А.В., 2011; Карамышева В.И., Иванова Л.Б., Перфилова В.Н., 2011; Иванова Л.Б., Карамышева В.И., Перфилова В.Н. и др., 2012; Тюренков И.Н., Иванова Л.Б., Карамышева В.И. и др., 2012; Макарова Л.М., Погорелый В.Е., 2013; Тюренков И.Н., Багметов В.В., Чернышева Ю.В., 2013; Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Попова Т.А. и др., 2003).

ВЫВОДЫ

1. У крыс - самок с экспериментальным гестозом наблюдается достоверное повышение артериального давления на 11,6%, увеличение концентрации белка в моче на 208,8% относительно исходных данных, повышение числа мертворожденного потомства на 25,6 % и гибели его в постнатальном периоде на 29,7% относительно самок с неосложненной беременностью. У крыс с ЭГ, получавших соединения РГПУ-135, РГПУ-242 с 7-го по 21-й день гестации, АД достоверно не отличалось, а уровень белка в суточной моче возрос только на 93,8 и 94,0% соответственно относительно 1-го дня беременности, мертворожденных плодов было на 15 ($p \leq 0,05$) и 24 % ($p \leq 0,05$) соответственно меньше, гибель потомства постнатально снижалась на 12 % в сравнении с негативным контролем.

2. У потомства, рожденного самками с ЭГ, отмечено отставание в физическом развитии, что проявляется задержкой прорезывания резцов на 3 дня, открытия глаз на 1 день, снижением времени удержания на горизонтальной сетке на 23,2% ($p \leq 0,05$) по сравнению с крысятами от самок с неосложненной беременностью. Обнаружено замедление формирования сенсорно-двигательных рефлексов: слуховой и обонятельной чувствительности на 3 дня, вестибулярной устойчивости и координации движений в тестах «Отрицательный геотаксис» на 2 дня, «Избегание обрыва» на 3 дня, «Ползание» на 4 дня, «Переворачивание в свободном падении» на 2 дня по сравнению с потомством от самок без ЭГ.

3. Соединения РГПУ-135 и РГПУ-242 ограничивают повреждающее влияние ЭГ на потомство, о чем свидетельствуют более высокие показатели физического развития: прорезывание резцов (на 3 дня раньше в обеих группах), открытие глаз (на 2 и 1 день соответственно раньше) и раннее созревание сенсорно-двигательных рефлексов: слуховой чувствительности (на 3 и 2 дня), обонятельной чувствительности (на 2 и 1 день), вестибулярной реакции в тестах «отрицательный геотаксис» (на 2 дня в обеих группах), «избегание обрыва» (на 2 и 1 день), «ползание» (на 2 и 4 дня), «переворачивание в свободном падении» (на 2 дня в обеих группах) у крысят от самок с ЭГ, получавших соединения по сравнению с группой негативного контроля.

4. У крысят, рожденных самками с ЭГ, в тесте «Открытое поле» наблюдается дефицит поведения - снижение числа пересеченных квадратов установки на 25,4 % ($p \leq 0,05$), суммарного числа вертикальных стоек и заглядываний в отверстия на 14,4 % ($p \leq 0,05$), в тесте ПКЛ - уменьшение времени нахождения в открытых рукавах установки на 23,6 % ($p \leq 0,05$), что может свидетельствовать о повышенном уровне тревожности по сравнению с потомством от самок с неосложненной беременностью. У крысят от самок с ЭГ, получавших в течение гестации соединение РГПУ-242, проявлений тревожности не отмечено, в тестах «Открытое поле» и ПКЛ их поведение не отличалось от такового животных группы позитивного контроля.

5. При изучении когнитивных функций в тестах УРПИ и ТЭИ у потомства от крыс с ЭГ в возрасте 6 месяцев отмечается затруднение формирования и сохранения памятного следа. Продолжительность ЛП захода в ТК на 1-е сутки воспроизведения была на 28,6% ($p \leq 0,05$) меньше, а число посетивших ТК – на 50,2% больше ($p \leq 0,05$) по сравнению с животными позитивного контроля. Время избавления от аверсивной среды в ТЭИ на 1-е сутки воспроизведения было на 85,4% ($p \leq 0,05$) большим по сравнению с потомством от самок с неосложненной беременностью. Введение самкам с ЭГ соединений РГПУ-135, РГПУ-242 способствовало улучшению формирования когнитивных функций у потомства, все показатели обученности и сохранности памятного следа у этих животных не отличались от таковых группы позитивного контроля.

6. Отмечены более ранние и выраженные судорожные проявления на модели коразолового киндлинга и при введении тиосемикарбазида у потомства от самок с ЭГ в возрасте 3 месяцев, что свидетельствуют об ослаблении у них активности тормозной ГАМК-ергической системы. Соединения РГПУ-135 и РГПУ-242, вводимые самкам в течение гестации, способствуют ограничению снижения функционирования ГАМК-ергической системы, что проявляется в увеличении латентного периода наступления судорог в тесте киндлинга и при введении тиосемикарбазида.

7. Выявлено снижение функции холинергической системы у потомства от самок с осложненной беременностью, на что указывает затруднение в формировании и ускоренное угасание памятного следа в тесте УРПИ (на 20,1% меньший латентный период захода в темную камеру на 14-е сутки воспроизведения) после введения им скополамина в возрасте 6 месяцев в дозе 1,75 мг/кг по сравнению с потомством от самок без ЭГ. Соединения РГПУ-135 и РГПУ-242 ограничивают повреждающее действие ЭГ на функционирование холинергической системы, о чем свидетельствует на 25,0 и 11,4 % соответственно более продолжительный латентный период захода в темную камеру на 14-е сутки воспроизведения по сравнению с потомством от самок негативного контроля.

8. Галоперидол в дозах 0,3 и 0,15 мг/кг вызывает у потомства от самок с ЭГ в возрасте 3 месяцев увеличение времени нахождения в «позе лектора» на 10 % и снижение расстояния, пройденного на установке «Rotarod» на 18,9% по сравнению с крысятами от самок с неосложненной беременностью, что свидетельствует о снижении тонуса дофаминергической системы у животных группы негативного контроля. Соединение РГПУ-242, вводимое самкам с ЭГ в период гестации, способствует ограничению нарушения функционирования данной нейромедиаторной системы у потомства, на что указывает на 9,1% меньшее время нахождения в «позе лектора» и на 88,1% большее расстояние, пройденное на установке «Rotarod», у крысят опытной группы в сравнении с негативным контролем.

9. При введении соединения РГПУ-242 потомству от самок с ЭГ с поведенческим дефицитом и тревожными проявлениями с 30 по 60 день постнатального периода отмечено увеличение времени нахождения в открытых рукавах установки ПКЛ в

возрасте 2 месяцев на 52,8% ($p \leq 0,05$) и числа стоек в них – в 3,5 раза по сравнению с негативным контролем, что свидетельствует о подавлении тревоги под влиянием исследуемого вещества. Соединение РГПУ-238 на этот показатель не влияет.

10. Соединение РГПУ-238, вводимое потомству от самок с ЭГ с 30 по 60 день постнатального развития, способствует увеличению ЛП захода в ТК на 25,3 % ($p \leq 0,05$) на 7-е сутки воспроизведения УРПИ, что указывает на улучшение памяти у них по сравнению с потомством от самок с ЭГ. Сохранение памятного следа у животных, рожденных самками с ЭГ, получавших РГПУ-242, не отличалось от группы негативного контроля.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные, свидетельствующие о позитивном влиянии нейроактивных аминокислот на психическое и физическое развитие потомства от крыс с экспериментальным гестозом, позволяют рекомендовать продолжение поиска среди новых соединений этого ряда веществ для коррекции нарушений в постнатальном онтогенезе.

2. Результаты исследования свидетельствуют о перспективности углубленного изучения фармакологической активности метилового эфира-3-пиридил-ГАМК - соединения РГПУ-242 с целью возможной разработки на его основе оригинального препарата для профилактики и лечения гестозов, а соединения РГПУ-238 – для коррекции нарушений памяти у детей в послеродовом периоде.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Перфилова, В.Н. Последствия гестоза (преэклампсии) / В.Н. Перфилова, **Л.И. Михайлова**, И.Н. Тюренков // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. – Т. 59, №2. - С.13-18.
2. Перфилова, В.Н. Роль эндотелиальных биологически активных веществ в прогнозировании развития и оценке степени тяжести преэклампсии / В.Н. Перфилова, **Л.И. Михайлова**, И.Н. Тюренков // Акушерство и гинекология. –2013. – №11. – С. 24–29.
3. Тюренков, И.Н. Влияние производного ГАМК – соединения РГПУ-151 – на развитие окислительного стресса у крыс с экспериментальным гестозом / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, Т.А. Попова, В.И. Карамышева, Л.Б. Резникова, И.И. Прокофьев, И.С. Мокроусов, Е.И. Гридин, **Л.И. Михайлова**, В.М. Берестовицкая, О.С. Васильева // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2013. - Т.76, №12. - С. 11-14.
4. Тюренков, И.Н. Влияние производных ГАМК на скорость тромбообразования, степень агрегации тромбоцитов и коагуляционную способность плазмы крови у крыс с экспериментальным гестозом / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, В.И. Карамышева, Л.Б. Резникова, И.С. Мокроусов, **Л.И. Михайлова**, В.М. Берестовицкая, О.С. Васильева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2014. - Т. 158, № 8. - С. 183-186.
5. Тюренков, И.Н. Отклонения в психическом развитии потомства крыс с экспериментальной преэклампсией и их коррекция новым производным гамма-аминомасляной кислоты / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, **Л.И. Михайлова**, Г.А. Жакупова, С.А. Лебедева // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. -Т. 13, № 3. - С. 56–62.
6. **Михайлова, Л.И.** Коррекция отклонений в постнатальном развитии потомства от крыс с экспериментальным гестозом соединением РГПУ-242 / Л.И. Михайлова, Г.А.

Жакупова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2014. - № 1 (49). - С. 128-130.

7. Тюренков, И.Н. Гравидопротекторное действие фенибута при экспериментальной преэклампсии / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, В.И. Карамышева, Т.А. Попова, С.А. Лебедева, **Л.И. Михайлова**, Г.А. Жакупова // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2014. – Т. 77, № 11. - С.6-10.

8. Тюренков, И.Н. Сравнительное изучение влияния новых производных нейроактивных аминокислот на постнатальное развитие потомства крыс с экспериментальным гестозом / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, **Л.И. Михайлова**, Г.А. Жакупова, С.А. Лебедева // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2014. - № 9-10. - С.123-130.

Статьи в журналах и сборниках материалов конференций

9. **Михайлова, Л.И.** Влияние производных ГАМК на концентрацию фактора Виллебранда в плазме крови животных с экспериментальным гестозом / Л.И. Михайлова, Л.Б. Резникова, Г.А. Жакупова, З.Н. Менжунова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета: приложение (Материалы V Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Геномные и протеомные технологии при создании лекарственных средств»). – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2013. – С. 85-86.

10. **Михайлова, Л.И.** Постнатальное развитие потомства крыс с экспериментальным гестозом / Л.И. Михайлова // Тезисы V Международный молодежный медицинский конгресс «Санкт-Петербургские научные чтения-2013».- Санкт-Петербург. – 2013. – С.14.

11. Тюренков, И.Н. Оценка влияния производных ГАМК на уровень кальция в плазме крови самок-крыс при экспериментальном гестозе // И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, В.И. Карамышева, **Л.И. Михайлова**, И.А. Карамышева// Материалы V Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины». - Ростов-на-Дону. - 2013.- С. 363 – 364.

12. Михайлова, Л.И. Влияние производного фенил-глутаминовой кислоты, соединения ргпу-135, на психическое развитие потомства крыс с экспериментальным гестозом / **Л.И. Михайлова**, Г.А. Жакупова // Молодежный инновационный вестник. – 2014. - Т. III, № 1. - С. 57-58.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГДА – горизонтальная двигательная активность

ЗР – закрытые рукава

ЛП – латентный период

ОИА – ориентировочно-исследовательская активность

ОР – открытые рукава

ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт

ПЭ – преэклампсия

ТК – темная камера

ТЭИ – тест экстраполяционного избавления

УРПИ – условная реакция пассивного избегания

ЦЗ – центральная зона

ЭГ – экспериментальный гестоз