

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.м.н., професором С.Б.Поповим

УДК 547.455.623'233.1:618.3-008.6:599.323

### ВПЛИВ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ НА ПЕРЕБІГ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕСТОЗІ У ЩУРІВ

Г.В.Зайченко

Національний фармацевтичний університет

**Робота відображає результати вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду на перебіг ендотеліальної дисфункції, що виникає при експериментальному гестозі у щурів. Глюкозаміну гідрохлорид, введений у лікувально-профілактичному режимі у дозі 90 мг/кг, чинить ендотелійпротекторну дію, яка проявляється нормалізацією судинного тонусу та рівня систолічного АТ, депресією ендотеліну, відсутністю морфологічних ознак ендотеліальної дисфункції. За ендотелійпротекторною дією глюкозаміну гідрохлорид не поступається препарату порівняння молсидоміну.**

Гестоз до теперішнього часу залишається найбільш важким ускладненням гестаційного періоду. Багато дослідників констатує той факт, що в останні десятиріччя відсутня тенденція до зниження цієї патології вагітності, особливо у розвинутих країнах та мегаполісах. За даними ВООЗ 10-15 років тому гестоз спостерігався у 8-10% вагітних, тоді як зараз у 17-24%. Щороку він є причиною смерті понад 50 тисяч жінок у світі [4, 7, 10].

В Україні частота виникнення гестозу також залишається високою — 12-17%. У структурі причин материнської смертності гестоз стабільно посідає друге-третє місце та складає 29-35% [2, 11].

На сьогодні питання причин виникнення та патогенезу гестозу залишаються не до кінця вирішеними. Але безсумнівним досягненням медичної науки є визнання того факту, що підґрунтям розвитку гестозу є ендотеліальна дисфункція та синдром системної запальної відповіді. За сучасними уявленнями гестоз — це гострий ендотеліоз (імунозалежне запальне пошкодження ендотелію) [5, 8, 13, 14]. Дисфункція ендотелію, що виникає при гестозі, це перш за все дисбаланс між продукцією вазодилатуючих, ангіопротективних, антипроліферативних чинників (NO, простагліцину, тканинний активатор плазміногену, С-тип нат-

рійуретичного пептиду, ендотеліального гіперполяризуючого фактора), з одного боку, та вазоконстрикторних, протромботичних, проліферативних чинників (ендотелін, супероксид-аніон, тромбоксан А<sub>2</sub>, інгібітор тканинного активатора плазміногену), з іншого боку.

Ендотеліальна дисфункція при гестозі, що первинно виникає у матково-плацентарному руслі, у подальшому набуває системного характеру та розповсюджується на інші ділянки регіонального кровообігу (печінку, нирки, головний мозок тощо) [17, 18, 19].

Новим та перспективним напрямком терапії гестозу можна вважати використання лікарських засобів, що містять глікозаміноглікани (ГАГ), до яких відносять гепарини (перш за все низькомолекулярні, фракціоновані), гепариноїди (сулодексид, пентосану полісульфат SP 54). Механізм дії цих лікарських препаратів обумовлений їх високою ендотеліотропністю та вираженою вазопротекторною (ангіопротекторною) дією, пов'язаною з відновленням структурної і функціональної цілісності та негативного заряду ендотеліальних клітин судин, підвищенням їх резистентності до дії пошкоджуючих факторів (ендо- та екзотоксинів, імунних комплексів, цитокінів, протеаз). Фармакологічна характеристика цієї групи лікарських засобів включає наступні ефекти:

- пригнічення адгезії тромбоцитів до судинної стінки, помірне зниження їх агрегації за рахунок стимуляції синтезу простагліцину ендотеліальними клітинами, зменшення продукції у лейкоцитах фактора активації тромбоцитів, а також NO-залежного утворення цАМФ у тромбоцитах;
- потенціювання антипротеазної активності антитромбіну III і кофактора гепарину II, що призводить до помірного пригнічення фактора Хагемана та тромбіну;

- стимуляцію фібринолізу за рахунок вивільнення з ендотелію тканинного активатора плазміногену та зниження активності його інгібітора у крові.

Крім того, чисельними експериментальними та клінічними дослідженнями встановлено, що гепарини та сулодексид зменшують проникність базальних мембран нирок, уповільнюють проліферацію гладеньком'язових клітин у стінках кровоносних судин нирок. За рахунок помірної вено-тонічної дії, зниження в'язкості крові ці препарати також позитивно впливають на мікроциркуляцію [12].

Відомо, що одним з мономерів ГАГ базальних мембран судин та нирок (органів-мішеней, які в першу чергу зазнають ураження при гестозі) є аміноцукор глюкозамін. Глюкозамін входить до складу гепарину, сулодексиду та пентосану. Не виключено, що саме він робить свій внесок у реалізацію фармакодинаміки зазначених лікарських засобів.

Метою даної роботи було вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду на перебіг ендотеліальної дисфункції, що виникає при експериментальній патології гестаційного процесу, та встановлення деяких механізмів його ендотеліопротекторної дії.

#### Матеріали та методи

Робота виконана на 40 білих нелінійних щурах-самицях віком 4-5 міс. Експериментальну патологію відтворювали шляхом підшкірного введення вагітним самкам водного розчину N $\omega$ -нітро-L-аргініну ("Sigma", США) — потужного інгібітора синтази оксиду азоту (NO) з 13-ої по 19-у добу вагітності у дозі 50 мг/кг. Інгібування NO-синтази в період гестації призводить до дефіциту ендогенного релаксуючого фактора — NO та викликає у дослідних тварин симптоми, характерні для гестозу: гіпертензію, протеїнурію, затримку внутрішньо-утробного розвитку плодів [15, 20]. Усі тварини були розподілені на 4 групи: перша — група інтактних тварин; друга — група контрольної патології, яка з 13-у по 19-у добу отримувала N $\omega$ -нітро-L-аргінін; третя група — отримувала глюкозаміну гідрохлорид ("Sigma", США) у дозі 90 мг/кг внутрішньошлунково у лікувально-профілактичному режимі з 11-ої по 19-у добу гестації, четверта — препарат порівняння молсидомін у дозі 0,46 мг/кг ("Сиднофарм", Sopharma, Болгарія) внутрішньошлунково в такому самому режимі.

Протягом усього часу експерименту тваринам вимірювали артеріальний тиск (АТ) за допомогою тонометра LE 5001 (PANLAB, S.L. Energia, 112 08940 Cornell, Іспанія). На 20-у добу вагітності під легким ефірним наркозом проводили евтаназію та

розтин самок. Ефективність глюкозаміну та препарату порівняння оцінювали за динамікою показників АТ, вмістом маркера ендотеліальної дисфункції — ендотеліну у сироватці крові вагітних щурів на 20-й день гестації. Вміст ендотеліну визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою набору "Ендотелін 1-21" ("Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG", Австрія). Тканини матково-плацентарного комплексу досліджувались морфологічно<sup>1</sup>, особливу увагу приділяли стану ендотелію судин матки та материнській частині плаценти. Підготовку зразків для світлооптичного дослідження проводили за загальноприйнятими методиками [6]. Морфологічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія). Мікрофотографування проводили цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500 з наступною обробкою зображень на комп'ютері Pentium 4GHz за допомогою спеціальної програми Nikon View 5. Всі отримані дані оброблялись методом варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм "Statistika 5.0". Рівень значущості дорівнював  $p < 0,05$ . При порівнянні вибірок, після того як ANOVA або ANOVA RM виявляв розбіжність між експериментальними групами, застосовували критерій Ньюмана-Кейлса [1].

#### Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень свідчать, що введення N $\omega$ -нітро-L-аргініну супроводжується поступовим, але стійким підвищенням систолічного артеріального тиску у самок групи контрольної патології, майже у 2 рази порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Це є наслідком дефіциту NO, що обумовлено інгібуванням NO-синтази. Оксид азоту виявляє багато функцій, серед них головними є: підтримка судинного тонуусу та забезпечення адекватної адаптації серцево-судинної системи до вагітності, антиагрегатна, протизапальна дія [5, 12]. Отже зниження рівня NO і гіпертензія, що виникла у вагітних тварин на даній моделі, в певній мірі відображає судинні розлади, які спостерігаються при гестозі у людини. Відомо, що при патологічних станах, які супроводжуються ураженням ендотелію, підвищується рівень ендотеліну-1 — найпотужнішого ендогенного вазоконстриктора. При гестозі рівень ендотеліну в плазмі в 2-3 рази вищий, ніж при фізіологічному перебігу вагітності. Синтез ендотеліну активується при гіпоксії та оксидативному стресі [5, 9, 11].

Цей факт було встановлено і в наших експериментах (табл. 2). Так, у групі тварин контрольної патології вміст ендотеліну збільшився у 2 рази порівняно з вагітними самками групи інтактного контролю. Експресія ендотеліну під впливом N $\omega$ -ніт-

<sup>1</sup> Морфологічні дослідження проведені в ЦНДЛ НФаУ (зав. лаб. проф. Л.В.Яковлева) за участю с.н.с., к.б.н. Ю.Б.Лар'яновської та на кафедрі гістології ХНМУ (зав. проф. С.Ю.Масловський) за участю доц., к.б.н. Т.В.Деевої

Таблиця 1

Динаміка показників систолічного артеріального тиску під впливом глюкозаміну та молсидоміну на моделі гестозу у щурів, n=10

Дні гестації	12-й	13-й	14-й	15-й	16-й	17-й	18-й	19-й
Групи тварин	Середнє значення систолічного АТ у щурів							
Інтактні щури	118,40±2,01	117,30±2,32	117,10±3,06	120,10±3,42	116,40±3,26	117,50±3,68	115,10±3,18	112,30±3,07
Контрольна патологія	119,20±0,79	167,00±8,12*	171,80±4,45*	188,70±7,38*	188,30±4,71*	182,70±7,03*	198,20±6,31*	199,80±6,51*
Глюкозаміну гідрохлорид 90 мг/кг	115,60±3,23	163,70±4,90	138,00±3,36**	129,70±4,58**	141,50±3,83**	142,10±3,58**	141,80±4,35**	142,7±2,9**
Молсидомін 0,46 мг/кг	119,40±1,87	136,70±1,92**	136,60±2,37**	141,50±1,14**	146,90±2,06**	146,60±1,42**	145,70±1,17**	146,40±1,52**

Примітки: \* — відхилення, вірогідне по відношенню до показника групи інтактного контролю,  $p < 0,05$ ; \*\* — відхилення, вірогідне по відношенню до показника групи контрольної патології,  $p < 0,05$ ; М — відхилення, вірогідне по відношенню до показника групи тварин, які отримували молсидомін,  $p < 0,05$ ; n — кількість тварин у групі.

Таблиця 2

Вміст ендотеліну під впливом глюкозаміну та молсидоміну на моделі гестозу у щурів, n=6

Групи тварин	Інтактні тварини	Контрольна патологія	Глюкозаміну гідрохлорид	Молсидомін
Вміст ендотеліну (fmol/ml)	4,13±0,46	8,36±0,21*	5,84±0,38**	7,60±0,19**

Примітки: \* — відхилення, статистично значуще відносно показника групи інтактного контролю,  $p < 0,05$ ; \*\* — відхилення, статистично значуще відносно показника групи контрольної патології,  $p < 0,05$ ; М — відхилення, статистично значуще відносно показника групи тварин, які отримували молсидомін,  $p < 0,05$ ; n — кількість тварин у групі.

ро-L-аргініну супроводжувалась патологічними змінами в судинах матки та плаценти, що було підтверджено морфологічними дослідженнями (рис. 1, 2).

У мікропрепаратах тканин матки та материнської частини плаценти досить чітко простежувались ознаки ендотеліальної дисфункції: пошкодження ендотеліального шару артерій дрібного та середнього калібру, агрегація еритроцитів, у деяких

випадках відокремлення формених елементів від плазми. Відмічались крайове стояння лімфоцитів та їх адгезія до ендотелію, розпушення судинної стінки, злушення ендотеліоцитів та дистрофічні зміни в них. В окремих артеріях спостерігалась компенсаторна проліферація ендотелію, тромбози.

Оскільки в сучасних схемах фармакотерапії пізнього гестозу з метою компенсування дефіциту

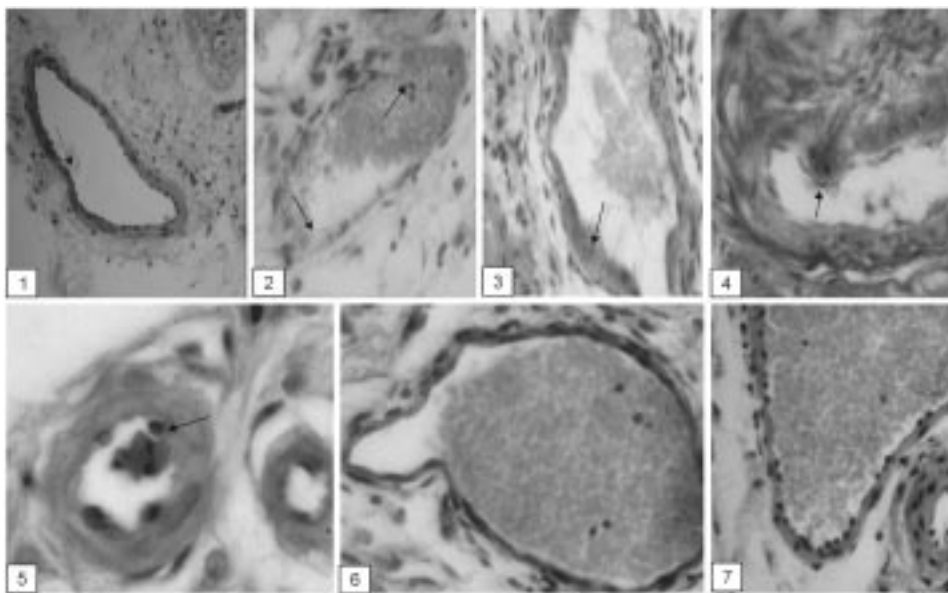


Рис. 1. Стан судин матки вагітної самки щура 20-ї доби гестації: 1 — інтактної (нормальний стан); 2-5 — після введення  $N\omega$ -нітро-L-аргініну (2 — порушення цілісності судинної стінки, 3 — дистрофія ендотеліальних клітин, тромбоз 4 — злушення та дистрофія ендотелію, 5 — проліферація ендотелію); 6 — після введення глюкозаміну (нормальний стан судин); 7 — після введення молсидоміну (судинна стінка майже не змінена). 1, 2, 3, 5, 6, 7 — гематоксилін-еозин.  $\times 200,400$ , імерсія. 4 — пікрофуксин за Ван Гізоном.  $\times 400$ .

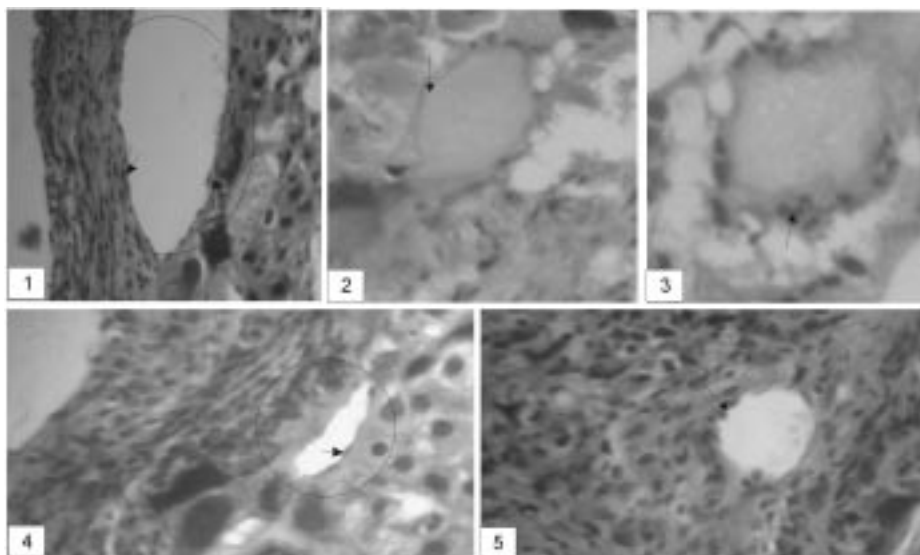


Рис. 2. Стан судин децидуальної оболонки плаценти саміці щура 20-ї доби гестації: 1 — інтактної (нормальний стан ендотелію); 2-3 — після введення  $N\omega$ -нітро-L-аргініну (2 — відсутність ендотелію, плазма у просвіті судин, 3 — дистрофія ендотеліоцитів, компенсаторна проліферація ендотеліальних клітин); 4 — після введення глюкозаміну (стан ендотелію наближений до норми); 5 — після введення молсидоміну (клітини ендотелію, що проглядаються, відповідають нормі). Гематоксилін-еозин.  $\times 250$ .

ендогенного релаксуючого фактора — оксиду азоту широко використовуються донатори NO, в якості референтного препарату ми застосували молсидомін [2, 7].

Під впливом глюкозаміну гідрохлориду та референтного препарату, які вводились на фоні  $N\omega$ -нітро-L-аргініну, відбувалось вірогідне зниження та нормалізація АТ. При цьому також спостерігалась депресія ендотеліну. Варто зазначити, що дія глюкозаміну гідрохлориду на рівень ендотеліну була більш вираженою, ніж молсидоміну. Це можна пояснити тим, що препарат порівняння здатен усувати дефіцит тільки одного вазодепресорного фактора — NO, не впливаючи на процеси регенерації та відновлення всіх функцій ендотелію. Відомо, що ендогенний глюкозамін входить до складу фібронектину — “молекулярного клею”, завдяки якому ендотеліоцити прикріплюються до базальної мембрани, що забезпечує міжклітинну взаємодію кліткової мембрани з міжклітинним сполучнотканинним матриксом. Він також є важливим структурним компонентом глікокаліксу, розташованого на люмінальній поверхні ендотеліоцитів, завдяки чому виконує важливу роль у рецепції та селекції сполук, які переносяться крізь мембрану клітин ендотелію, транспортуванні до них амінокислот, ліпідів, води, іонів Ca, Mg. Встановлено, що екзогенний глюкозамін, який потрапляє в організм, виявляє помірну протизапальну, антиагрегаційну, антигіпоксичну, антиоксидантну та виражену мембранопротекторну і репаративну дію [3, 16].

Морфологічна картина тканин матки та материнської частини плаценти під впливом глюкоз-

аміну гідрохлориду та референтного препарату значно покращувалась. Ендотеліальний шар судинної стінки у тварин, які отримували глюкозамін та молсидомін, не відрізнявся від таких, що були в групі інтактного контролю. Були відсутні ознаки пошкодження та дистрофії ендотеліоцитів, а також тромбози.

Отже, глюкозаміну гідрохлорид на даній моделі виявляє ендотелійпротекторну дію. Механізм ендотелійпротекторної дії глюкозаміну можна пояснити здатністю останнього захищати мембрани ендотеліальних клітин від дії пошкоджуючих факторів, відновлювати структурну цілісність ендотелію судин, нормалізувати його функціональну активність, у т.ч. створювати вазодепресорну та антитромботичну складову.

#### ВИСНОВКИ

1. Введення  $N\omega$ -нітро-L-аргініну у дозі 50 мг/кг протягом семи діб викликає у вагітних самок щурів ознаки ендотеліальної дисфункції: підвищення рівня систолічного АТ, експресію ендотеліну, які верифікуються морфологічно.

2. Глюкозаміну гідрохлорид, введений у лікувально-профілактичному режимі у дозі 90 мг/кг, виявляє ендотелійпротекторну дію, яка проявляється нормалізацією судинного тону та рівня систолічного АТ, депресією ендотеліну, відсутністю морфологічних ознак ендотеліальної дисфункції.

3. На моделі ендотеліальної дисфункції, що виникає при експериментальному гестозі у щурів, ендотелійпротекторна дія глюкозаміну гідрохлориду не поступається препарату порівняння молсидоміну.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд. — С.Пб.: Питер, 2003. — 688 с.
2. Венцківський Б.М., Запорожан В.М., Сенчук А.Я. Гестози вагітних. — К.: Аконтіт, 2002. — 112 с.
3. Кустаров В.Н., Линде В.А. Гестоз: патогенез, симптоматика, лечение. — С.Пб.: Гиппократ, 2000. — 160 с.
4. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Акиньюшина С.В. Синдром системного воспалительного ответа в акушерстве. — М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2006. — 448 с.
5. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. — М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. — 424 с.
6. Мозговая Е.В., Малышева О.В., Иващенко Т.Э. и др. Эндотелиальная дисфункция при гестозе. Патогенез, генетическая предрасположенность, диагностика и профилактика. — С.Пб.: ООО “Изд-во Н-Л”, 2003. — 32 с.
7. Репина М.А. Преэклампсия и материнская смертность. — С.Пб.: Изд. дом СПбМАПО, 2005. — 207 с.
8. Сидорова И.С. Гестоз. — М.: Медицина, 2003. — 416 с.
9. Сидорова И.С., Боровкова Е.И., Мартынова И.В. и др. // Акушерство и гинекол. — 2007. — №3. — С. 3-5.
10. Сидорова И.С., Зайратьянц О.В., Никитина Н.А. // Акушерство и гинекол. — 2008. — №2. — С. 13-15.
11. Черных В., Зупанец И., Шебеко С., Безуглая Н. // Вісник фармакол. та фармації. — 2008. — №4. — С. 40-46.
12. Шевченко О.А. Диференційована інтенсивна терапія преєклампсії з урахуванням ступеня розвитку гемодинамічних порушень: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 2003. — 21 с.
13. Al-Hijji J., Andolf E., Laurini R. // *Reprod. Biol. Endocrinol.* — 2003. — Vol. 1, №1. — P. 1-11.
14. Chambers J.C., Fusi L., Malik I.S. et al. // *J.A.M.A.* — 2001. — №285 (12). — P. 1607-1612.
15. Edwards D.L., Arora C.P., Bui D.T. et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1997. — №176 (5). — P. 1116.
16. Hua J., Suguro S., Iwabuchi K. et al. // *Inflamm. Res.* — 2004. — №53 (12). — P. 680-688.
17. Meher S., Duley L. // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* — 2007. — №2. — Art. — CD006490.
18. Postovit L.M., Adams M.A., Graham C.H. // *Placenta.* — 2001. — №22. — P. S51-S55.
19. Vanderlelie J.J., Percins A.V. // *Hypertens. Pregnancy.* — 2006. — №25 (2). — P. 103-114.
20. Wang Y., Gu Y., Zhang Y. et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2004. — №190 (3). — P. 817-824.

УДК 547.455.623\*233.1:618.3-008.6:599.323

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА НА ТЕЧЕНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕСТОЗЕ У КРЫС

А.В.Зайченко

Представлены результаты изучения влияния глюкозамина гидрохлорида на течение эндотелиальной дисфункции, возникающей при экспериментальном гестозе у крыс. Глюкозамина гидрохлорид, введенный в лечебно-профилактическом режиме в дозе 90 мг/кг, проявляет эндотелийпротекторное действие, которое проявляется нормализацией сосудистого тонуса и снижением систолического артериального давления, депрессией уровня эндотелина, отсутствием морфологических признаков эндотелиальной дисфункции. Эндотелийпротекторное действие глюкозамина гидрохлорида не уступает препарату сравнения молсидомину.

UDC 547.455.623\*233.1:618.3-008.6:599.323

THE INFLUENCE OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE ON ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN EXPERIMENTAL GESTOSIS IN RATS

A.V.Zaychenko

The article is about results of study of glucosamine hydrochloride influence on endothelial dysfunction that is caused by experimental gestosis in rats. Glucosamine hydrochloride used in 90 mg/kg as therapeutic-prophylactic treatment has endothelium-protective effect that includes vascular tone normalization, systolic pressure decrease, decrease of endothelin level, disappearing of endothelial dysfunction symptoms (morphologically). Endothelium-protecting effect of glucosamine hydrochloride is not less than the same effect of molsidomin (drug of comparison).