

На правах рукописи

Таныгина Елена Сергеевна

ВОЗДЕЙСТВИЕ БИГУАНИДИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ ПРИ
КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ

Специальность 03.01.04. - Биохимия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Воронеж - 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВПО «ВГУ»)

Научный руководитель доктор биологических наук, профессор
Попова Татьяна Николаевна

Официальные оппоненты: **Котелевцев Сергей Васильевич**
доктор биологических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»,
биологический факультет, лаборатория
физико-химии биомембран, ведущий научный сотрудник

Земченкова Ольга Владимировна
кандидат биологических наук,
ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», кафедра биохимии, ассистент

Ведущая организация Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН

Защита диссертации состоится «18» ноября 2015 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д.212.038.03 при Воронежском государственном университете по адресу: 394006, Воронеж, Университетская пл., 1, ауд. 59.

Автореферат диссертации размещен на официальном сайте Минобрнауки Российской Федерации и на сайте Воронежского государственного университета <http://www.science.vsu.ru>.

С диссертацией можно ознакомиться в зональной научной библиотеке Воронежского государственного университета

Автореферат разослан «__» _____ 2015 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук



Грабович М.Ю.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Болезни сердечно-сосудистой системы, являясь ведущей причиной смертности в мире, уносят ежегодно жизни свыше 16 млн. человек и приводят к большим экономическим потерям. В настоящее время сердечно-сосудистые патологии и связанные с ними снижение трудоспособности и высокая инвалидизация населения являются одной из основных проблем здравоохранения. Важнейшим патогенетическим фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) являются ишемические повреждения миокарда. Удельный вес ишемической болезни сердца (ИБС) среди причин смерти от кардиоваскулярной патологии достигает 88% (Амосова Е.Н., 2000). Кроме того, к числу заболеваний, связанных с высоким риском развития сердечно-сосудистых нарушений, относят ревматоидный артрит (РА) – распространенное во всем мире аутоиммунное заболевание. Основной причиной смертности больных РА являются кардиоваскулярные нарушения (КН), на долю которых приходится около 40% всех летальных исходов при данном заболевании (Dhawan S.S., 2008). Известно, что ключевым звеном патогенеза при развитии болезней, связанных с ишемией, в частности инфаркта миокарда, миокардита и других сердечно-сосудистых заболеваний, является окислительный стресс (Ланкин В.З., 2000). Интенсификация свободнорадикальных процессов (СРП) вызывает ряд структурно-функциональных повреждений биомембран, нуклеиновых кислот и белков, то есть важнейших компонентов клетки и организма в целом. Повреждающему эффекту свободных радикалов (СР) противодействует антиоксидантная система организма, компонентами которой являются ферментативные и неферментативные антиоксиданты, способные снижать скорость протекания свободнорадикального окисления (СО) биомолекул, обезвреживать СР за счет обмена своего H^+ (в большинстве случаев) на O_2 свободных радикалов (Меньшикова Е.Б., 1993; Вартамян Л.С., 1992; Belomo G., 1991; Nohl H., 1990).

С целью фармакологической коррекции сдвигов метаболизма, происходящих при кардиоваскулярной патологии, постоянно ведется поиск соединений, способных усилить антиоксидантный потенциал организма. В настоящее время известно, что некоторые гуанидиновые производные могут оказывать существенное влияние на окислительный гомеостаз, обладают антиоксидантной активностью, гипогликемическими, антисептическими, кардиопротекторными и другими свойствами (Anisimov V.N., 2005; Murakami K., 1997; Ramsay R.R., 1984). Так, гуанидиновое производное – метформин, наряду с хорошо известным антигипергликемическим действием обладает целым рядом кардиопротективных эффектов, способствует также увеличению микроциркуляции в различных органах и тканях, включая печень и скелетные мышцы, снижению скорости развития атеросклероза и тромбообразования (Балаболкин М.И., 2005; Бобров В.О., 2004). Результаты исследования показали, что применение метформина позволило достоверно снизить риск сосудистых осложнений на 40%. В связи с распространенностью и тяжестью ССЗ актуальной задачей биомедицины остаются поиск и оценка возможно-

сти применения бигуанидиновых производных с кардиопротекторным и антиоксидантным потенциалом в технологии разработки новых лекарственных препаратов, способных оказывать позитивный эффект при развитии кардиоваскулярной патологии.

Цели и задачи исследования. Целью настоящей работы было исследование воздействия бигуанидиновых производных – 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида (3,5-ДКМФБ) и 2,4-диметоксифенилбигуанида (2,4-ДМФБ), на свободнорадикальный гомеостаз при кардиоваскулярной патологии в эксперименте на животных.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Поиск бигуанидиновых производных с целевой биологической активностью.
2. Исследование влияния синтетических гуанидиновых производных на активность маркерных ферментов повреждения кардиомиоцитов при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА, в сыворотке крови крыс.
3. Оценка воздействия 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на интенсивность процессов СО и степень фрагментации ДНК в тканях крыс при кардиоваскулярной патологии, вызванной введением адреналина и развитием РА.
4. Изучение влияния 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы при сердечно-сосудистой патологии у крыс, индуцированной введением адреналина и развивающейся при РА.
5. Оценка воздействия 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на активность глутатионнового звена антиоксидантной системы (АОС) – глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионтрансферазы (ГТ) и содержание восстановленного глутатиона (GSH), на фоне развития кардиоваскулярных нарушений, индуцированных введением адреналина и развитием РА.
6. Исследование степени воздействия 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на активности NADPH-генерирующих ферментов – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) и NADP-изоцитратдегидрогеназы (NADP – ИДГ), при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА.
7. Оценка воздействия 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на активность аконитатгидратазы (АГ), являющейся критической мишенью действия активных форм кислорода (АФК), и содержание цитрата в сердце и сыворотке крови крыс при индукции патологии.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование воздействия бигуанидиновых производных - 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ, на интенсивность СО биомолекул, активность ферментативных (СОД, каталаза, ГП, ГР, ГТ) и содержание неферментативных компонентов АОС (GSH, цитрат), активность ряда ферментов окислительного метаболизма (Г6ФДГ, NADP – ИДГ, АГ) при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развивающейся на фоне РА, в эксперименте на животных. Установлено, что введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ при КН приводит к снижению интенсивности СРП и степени мобилизации ферментов АОС в

сердце и сыворотке крови крыс. Исследовано воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на активность ферментов, поставляющих NADPH, для функционирования глутатионовой АОС. Предложена гипотетическая схема участия бигуанидиновых производных - 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ, в регуляции свободнорадикального гомеостаза при сердечно-сосудистой патологии. Проведенные исследования способствуют развитию фундаментальных представлений о механизмах регуляции образования АФК при патологиях, сопряженных с оксидативным стрессом, под действием бигуанидиновых производных.

Практическая значимость. Результаты настоящей работы могут служить основой разработки новых способов профилактики и лечения сердечно-сосудистых патологических состояний. Данные, полученные в ходе исследования, углубляют фундаментальные представления о путях реализации протекторного действия бигуанидиновых производных - 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ, обладающих антиоксидантным и кардиопротекторным потенциалом. Результаты исследования способствуют решению проблемы по выяснению сдвигов метаболизма при сердечно-сосудистых заболеваниях и поиску наилучших направлений их коррекции. Данные о позитивном воздействии бигуанидиновых производных на свободнорадикальный гомеостаз в тканях млекопитающих свидетельствуют о возможности применения 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в антиоксидантной терапии при лечении сердечно-сосудистых заболеваний. Данные, полученные в ходе работы, могут быть применены при разработке антиоксидантных препаратов для профилактики и лечения сердечно-сосудистых нарушений, а также могут быть использованы как материалы доклинического исследования с целью дальнейшего клинического исследования перспективных лекарственных препаратов на основе производных гуанидина.

Материалы работы применяются при подготовке учебных программ дисциплин «Свободнорадикальные процессы в биосистемах», спецкурсов «Патобиохимия», «Медицинская энзимология», «Физико-химические основы патологических процессов», «Молекулярные механизмы адаптации к стрессовым факторам», преподаваемых на биолого-почвенном факультете Воронежского государственного университета. Кроме того, они используются при проведении практикумов, выполнении выпускных квалификационных работ и магистерских диссертаций студентами Воронежского государственного университета.

Апробация работы. Основные результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, представлены на XXI съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга, 2010), на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биомедицинская инженерия и биотехнология» (Курск, 2011), на XVIII межгородской научной конференции молодых учёных «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2012), на Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 75-летию со дня рождения В.В. Кормачева (Чебоксары, 2012), на международной научно-практической конференции «Наука XXI

века: теория, практика и перспективы» (Уфа, 2015), на международной научно-практической конференции «Естественно-научные исследования и народное хозяйство» (Воронеж, 2015), а также на II международной научно-практической конференции «Наука и образование: инновации, интеграция и развитие» (Уфа, 2015).

Публикации. Основные результаты диссертационной работы изложены в 13 публикациях, из них 3 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Доказано протекторное действие бигуанидиновых производных - 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ, при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развивающейся на фоне РА, у экспериментальных животных. Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ приводит к улучшению маркерных показателей при данных патологических состояниях и способствуют торможению процессов СО, усиливающих при развитии патологии.
2. Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ животным с кардиоваскулярной патологией, индуцированной введением адреналина и развитием РА, сопровождается снижением степени нагрузки на АОС и реверсией многих показателей противокислительной защиты в направлении нормы.
3. Введение бигуанидиновых производных способствует изменению в сторону контроля активности ряда ферментов окислительного метаболизма, оказывающих лимитирующее действие на интенсивность СО биосубстратов.
4. На основе полученных данных предложена гипотетическая схема, отражающая воздействие бигуанидиновых производных на регуляцию свободнорадикального гомеостаза при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 253 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов (4 главы), заключения, выводов, списка литературы (389 источников). Иллюстративный материал включает 8 таблиц, 3 схемы и 37 рисунков, а также 16 рисунков в Приложении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект и материалы исследования: В ходе экспериментальных исследований использовали гомогенат сердца и сыворотку крови белых крыс-самцов массой 150-200 г. Животные были разделены на пятнадцать экспериментальных групп: в 1-ю группу (n = 19) входили животные, находящиеся в стандартных условиях вивария (контроль); 2-ю группу (n = 15) составляли животные с КН, индуцированными введением адреналина; в 3-й (n = 18), 4-й (n = 18), 5-й (n = 20) и 6-й (n = 20) группах животным с кардиоваскулярной патологией, индуцированной введением адреналина, внутрибрюшинно вводили 3,5-ДКМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг на 1 кг веса животного, в виде раствора в 1 мл 0,9% раствора NaCl, дважды – один раз через 15 мин, а затем через 4 часа после введения катехоламина; крысам 7-й (n = 18), 8-й (n = 19), 9-й (n = 20) и 10-й (n = 18) группы по аналогичной схеме вводили 2,4-ДМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг на кг веса животного; 11-ю группу (n = 15) со-

ставляли животные с РА, вызванным введением адьюванта Фрейнда; в 12-й (n = 18) и 13-й группе (n = 18) животным с сердечно-сосудистой патологией, развивающейся на фоне РА, внутрибрюшинно вводили 3,5-ДКМФБ в дозах 25 и 50 мг на 1 кг веса животного, в виде раствора в 1 мл 0,9% раствора NaCl, ежедневно, однократно, начиная с 7-го дня после введения адьюванта Фрейнда; крысам 14-й (n = 19) и 15-й группы (n = 20) по аналогичному способу вводили 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг на 1 кг веса животного.

Поиск бигуанидиновых производных с целевой биологической активностью осуществлялся с помощью компьютерной программы прогноза «структура-свойство» PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) (Садым А.В., 2002, Poroikov V.V., 2005).

Создание модели сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, у крыс. Для моделирования патологического состояния адреналин вводили животным подкожно в дозе 0,15 мл на 100 г массы тела в виде раствора в 1 мл 0,9% NaCl. Инъекцию осуществляли однократно. Через сутки после введения адреналина у наркотизированных животных забирали кровь и извлекали сердце.

Моделирование сердечно-сосудистой патологии состояния индуцированием ревматоидного артрита у крыс. Экспериментальный ревматоидный артрит (ЭРА) вызывали путём подкожного введения в подушечку лапки полного адьюванта Фрейнда – комплекса соединений, вызывающего развитие данной патологии, в объёме 100 мкл (Wang D., 2010). Инъекцию осуществляли однократно. Животных забивали на 15-й день эксперимента.

Подготовка материала для исследования. Сердце после многократного перфузирования ледяным изотоническим раствором измельчали, гомогенизировали в охлажденной среде выделения следующего состава: 0,1 М трис-HCl-буфер (рН 7,8), содержащий 1 мМ ЭДТА, 1% β-меркаптоэтанол и центрифугировали при 10000 g в течение 12 мин. Полученный гомогенат использовали для дальнейших исследований. Забор крови осуществляли из сердца. Кровь помещали на 0,5 часа в термостат при температуре 37⁰С и центрифугировали при 3000g в течение 10 мин. Полученную сыворотку использовали для дальнейших исследований.

Оценка степени цитолиза кардиомиоцитов осуществлялась с помощью определения активностей аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и креатинкиназы-МВ (КК-МВ) с использованием диагностических наборов фирмы «Витал Диагностик», Санкт-Петербург.

Маркерные показатели развития РА оценивали с помощью следующих подходов: определение содержания ревматоидного фактора (РФ) в сыворотке крови крыс турбидиметрическим методом (Вершинин В.И., 2011), скорости оседания эритроцитов (СОЭ) крови крыс по методу Панченкова (Луговская С.А., 2006), а также измерение диаметра лапки крыс в месте визуализации воспалительного процесса.

Определение интенсивности свободнорадикальных процессов. Для определения интенсивности СРП применяли метод индуцированной биохе-

милюминесценции. Использовали биохемиллюминометр БХЛ-06М с программным обеспечением. Кинетическую кривую биохемиллюминесценции регистрировали в течении 30 секунд и определяли следующие параметры БХЛ: светосумму (S), интенсивность вспышки (I_{max}) и величину тангенса угла наклона касательной к нисходящей ветви кривой ($tg\alpha_2$) (Любитский О.Б., 1996). Содержание ДК определяли спектрофотометрически при 233 нм (Стальная И.Д., 1977). Степень спонтанной ОМБ сердца и сыворотки крови определяли при 370 нм (Дубинина Е.Е., 2000).

Определение интенсивности апоптоза осуществляли по степени фрагментации ДНК. ДНК выделяли с помощью комплекта реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-В». Степень фрагментации ДНК определяли методом электрофореза, который проводили в агарозном геле. Для окрашивания использовали бромистый этидий.

Определение активности ферментов. Активность ферментов определяли на спектрофотометре Hitachi U – 1900. Активность СОД определяли по ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия в неэнзиматической системе феназинметасульфата и NADH при 540 нм (Матюшин Б.Н., 1991). За единицу активности СОД принимали количество фермента, необходимого для 50% ингибирования восстановления НСТ. Определение активности каталазы проводили методом, основанным на способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 410 нм. (Королюк М.А., 1988). Активность NADP-зависимых ферментов определяли при 340 нм. О скорости реакций, катализируемых Г6ФДГ и NADP-ИДГ, судили по возрастанию оптической плотности в результате восстановления NADPH. О скорости ГР-реакции судили по уменьшению оптической плотности в результате окисления NADPH, протекающего за счет реакции восстановления глутатиона. О скорости ГП-реакции судили по уменьшению оптической плотности в результате окисления NADPH, протекающего за счет осуществления сопряженных ферментативных реакций: образования окисленного глутатиона под действием ГП и его последующего восстановления, взаимосвязанного с окислением NADPH, под действием ГР. О скорости ГТ-реакции судили по возрастанию оптической плотности опытных образцов при 340 нм. Определение активности фермента основано на превращении субстрата в глутатион-2,4-динитробензол. Активность АГ определяли при 233 нм. Активность ферментов выражали в ферментативных единицах (Е) на 1 мг белка или Е в расчете на 1 г сырой массы материала (мл сыворотки). За единицу активности принимали количество фермента, катализирующее образование 1 мкМ продукта за 1 мин при 25°C. Общий белок определяли с помощью метода Лоури (Lowry O., 1951).

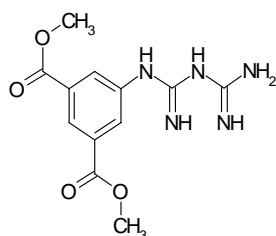
Определение содержания низкомолекулярных антиоксидантов. Концентрацию GSH определяли с помощью реакции с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой, в результате которой образуется тионитрофенильный анион, имеющий максимум поглощения при 412 нм

(Бузлама В.С., 1997). Количество цитрата определяли по методу Нательсона (Афанасьев В.Г., 1973).

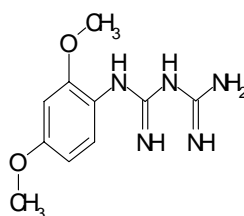
Статистическая обработка экспериментальных данных. Опыты проводили в 15-20-ти кратных биологических и 2-х кратных аналитических повторностях. Результаты опытов сравнивали с контролем. В таблицах и на рисунках приводятся средние арифметические значения активностей данного фермента и их стандартные ошибки. Полученные данные обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента с вычислением среднего значения, стандартного отклонения, различия считали достоверными при $p \leq 0,05$ (Ллойд Э., 1990).

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ НА МАРКЕРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ АДРЕНАЛИНА И РАЗВИТИЕМ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА У КРЫС

С помощью компьютерной программы PASS был проведен скрининг



а



б

Рис. 1. Структурные формулы производных бигуанидов 3,5-ДКМФБ (а) и 2,4-ДМФБ (б)

базы данных по структурам и были отобраны соединения - производные бигуанида - 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ, с вероятностью проявления кардиопротекторной и антиоксидантной активности 0,75-0,82 (рис. 1).

Согласно полученным результатам, в сыворотке крови животных с сердечно-сосудистой патологией, которым вводили 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ во всех исследуемых дозах, было отмечено снижение активности маркерных ферментов цитолиза кардиомиоцитов – АсАТ и КК-МВ, значительно возрастающих при патологии. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозе 50 мг на кг веса животного, на фоне развития патологии, наблюдался наибольший кардиопротекторный эффект. Снижение активности АсАТ и КК-МВ под действием производных бигуанида свидетельствовало об уменьшении степени цитолиза кардиомиоцитов у исследуемых животных, что является следствием проявления кардиопротекторных свойств исследуемых соединений. Введение производных бигуанида приводило к снижению маркерных показателей развития РА – РФ, СОЭ, а также изменению толщины лапок крыс в сторону контрольных значений.

Оценка оксидативного статуса в тканях крыс при патологии и действии 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ осуществлялась на основе параметров биолюминесценции (БХЛ), определения содержания диеновых конъюгатов, карбонильных групп белков и фрагментации ДНК. При введении производных бигуанида на фоне развития патологии, происходило снижение показателей

БХЛ (табл. 1). Так, при введении 3,5-ДКМФБ в дозе 25 мг на кг веса животного, на фоне развития сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, параметр S в сердце и сыворотке крови крыс уменьшался в 1,6 и 1,3 раза, I_{\max} снижалась в 4,1 и 1,4 раза, $\text{tg}\alpha_2$ падал в 3,1 и 2,6 раза соответственно. Введение 2,4-ДМФБ в дозе 25 мг/кг веса тела животного при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, приводило к уменьшению в сердце и сыворотке крыс показателей БХЛ: S - в 1,7 и 1,5 раза, I_{\max} - в 3,8 и 1,4 раза, $\text{tg}\alpha_2$ - в 2,1 и 2,4 раза соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Параметры биофлуоресценции в сердце и сыворотке крови животных исследуемых групп

№ группы животных	Светосумма вспышки флуоресценции (S), mV _{хс}		Интенсивность максимальной вспышки (I_{\max}), mV		Тангенс угла наклона кинетической кривой ($\text{tg } \alpha_2$)	
	сердце	сыворотка крови	сердце	сыворотка крови	сердце	сыворотка крови
1	485±24	903±45	51,5±2,6	68,5±3,4	7,10±0,36	14,5±0,7
2	824±41	1354±67	195,7±9,8	116,5±5,8	23,70±1,19	40,6±2,0
3	792±40*	1289±64*	128,0±6,4*	108,0±5,4*	13,40±0,67*	41±2,1*
4	524±26*	1023±51*	48,2±2,2*	81,3±4,1*	7,70±0,39*	15,6±0,8*
5	576±29*	1176±29*	55,6±2,8*	99,5±5,0*	12,80±0,64*	17,8±0,9*
6	592±30*	1332±67*	59,4±3,0*	104,0±5,2*	18,0±0,9*	36,0±1,8*
7	630±32*	1377±69*	155,8±7,8*	119,3±6,0*	24,60±1,23*	29,75±1,49*
8	473±24*	908±45*	51,6±2,6*	84,6±4,2*	11,20±0,56*	17,0±0,85*
9	542±27*	1197±60*	53,0±2,7*	99,8±5,0*	13,80±0,69*	18,6±0,93*
10	637±32*	1545±77*	139,25±7,0*	118±5,9*	16,0±0,80*	22,67±1,13*
11	715±41	1197±57	65,4±2,8	102,5±5,8	8,5±0,41	24,1±0,91
12	694±26*	1069±51*	62,3±2,2*	97,6±4,1*	8,6±0,39*	24,3±0,92*
13	668±18*	899±41*	51,3±1,1*	70,2±3,9*	7,8±0,63*	20,3±0,93*
14	669±19*	1129±49*	59,5±2,8*	100,5±2,6*	8,7±0,64*	24,2±0,94*
15	606±23*	907±40*	56,1±2,3*	75,2±3,8*	7,9±0,61*	21,8±0,61*

Примечание: * - отличия от значений контрольной группы достоверны (уровень значимости $p < 0,05$).

При введении 3,5-ДКМФБ в дозе 50 мг/кг при КН, развивающихся на фоне РА, наблюдалось снижение S и I_{\max} в сердечной мышце крыс в 1,1 и 1,3 раза, в сыворотке крови – в 1,3 и 1,5 раза. Введение 2,4-ДМФБ в этой дозе сопровождалось уменьшением данных параметров в сердечной мышце крыс в 1,2 раза, в сыворотке крови – в 1,3 и 1,4 раза. Под влиянием 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозе 50 мг/кг у крыс с РА было выявлено снижение $\text{tg}\alpha_2$ в сердце крыс на 10%, а в сыворотке крови на 20% и 10%, относительно группы животных с патологией.

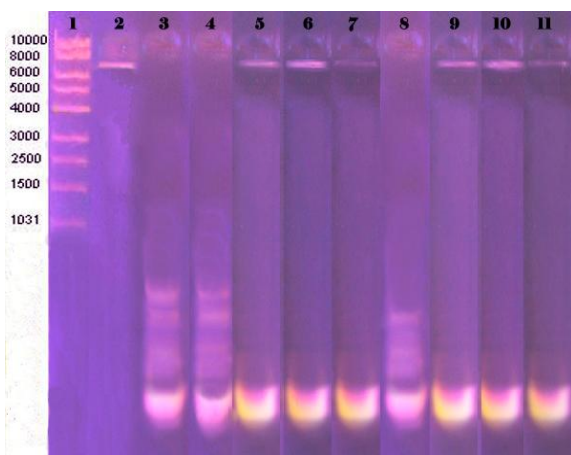


Рис. 2. Электрофореграмма препаратов ДНК из кардиомиоцитов крыс: 1 - маркеры молекулярной массы; 2 - контроль; 3 - крысы с сердечно-сосудистой патологией, индуцированной введением адреналина; 4, 5, 6, 7 - группы крыс с патологией после введения 3,5-ДКМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг/кг; 8, 9, 10, 11 - группы крыс с патологией, после введения 2,4-ДМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг/кг

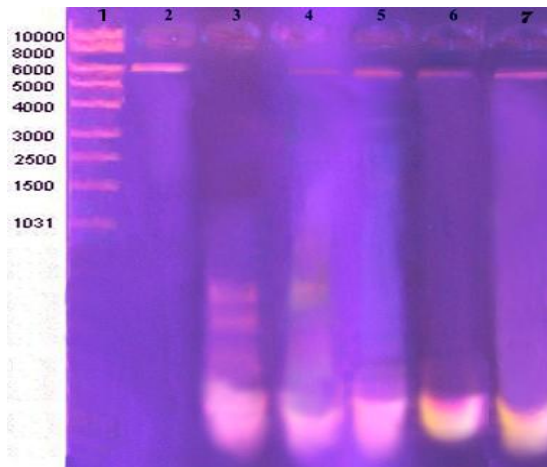


Рис. 3. Электрофореграмма препаратов ДНК из кардиомиоцитов крыс:

1 - маркеры молекулярной массы; 2 - контроль; 3 - крысы с сердечно-сосудистой патологией, развивающейся на фоне РА; 4, 5 - группы крыс с патологией после введения 3,5-ДКМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг; 6, 7 - группы крыс с патологией после введения 2,4-ДМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг/кг

Введение производных бигуанида во всех исследуемых дозах на фоне развития патологии приводило к снижению содержания ДК в тканях исследуемых животных. Так, при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг на кг веса тела животного, на фоне развития сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, содержание ДК уменьшалось в сердце крыс в 1,2, 3,7, 2,8 и 2,2 раза, в сыворотке крови - в 1,5, 4,1, 6,4 и 1,6 раза соответственно. Введение 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг на кг веса тела животного, на фоне РА, сопровождалось снижением содержания ДК в сердце крыс в 1,2 и 1,7 раза, в сыворотке крови крыс в 1,6 и 1,8 раза соответственно.

Воздействие производных бигуанида во всех исследуемых дозах на фоне развития сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, приводило к снижению содержания карбонильных групп в тканях крыс. Так, при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 и 50 мг на кг веса тела животного содержание карбонильных групп уменьшалось в сердце в 2,0 и 1,2 раза, в сыворотке крови в 1,6 и 2,5 раза соответственно. При введении 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг на кг веса тела животного уровень карбонильных групп уменьшался в сыворотке крови крыс в 1,4 раза по сравнению с животными с патологией.

ДНК, выделенная из сердца крыс с сердечно-сосудистой патологией была фрагментирована по сравнению с ДНК контрольных проб (рис. 2, 3). Причем полученные фрагменты ДНК образовывали характерную "апоптотическую лестницу". Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ животным с патологией приводило к

снижению степени фрагментации ДНК, апоптозная лестница в большинстве проб практически не визуализировалась (рис. 2, 3), что может быть свидетельством антиапоптотического действия исследуемых веществ. Снижение интенсивности апоптоза в кардиомиоцитах, очевидно, было взаимосвязано с уменьшением скорости процессов СО, на что указывают результаты определения параметров БХЛ и уровня ДК.

Таким образом, выявлено снижение интенсивности процессов СО при действии 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ как в сердце, так и в сыворотке крови крыс в условиях развития сердечно-сосудистых нарушений, индуцированных введением адреналина и развитием РА, что, вероятно, обусловлено реализацией комплекса положительных эффектов, обеспечивающего антиоксидантное и кардиопротекторное действие исследуемых бигуанидов.

ВЛИЯНИЕ 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПРИКАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ АДРЕНАЛИНА И РАЗВИТИЕМ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА У КРЫС

Важнейшими компонентами антиоксидантной защиты организма являются ферменты СОД, каталаза, ГП, ГР и ГТ, в связи с чем было проведено исследование влияния 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на изменение активности этих антиоксидантных ферментов. В условиях развития сердечно-сосудистой патологии имело место увеличение активности СОД, каталазы, ГП и ГР по сравнению с контролем, что, по-видимому, является признаком функциональных изменений, вызванных избыточной генерацией СР и увеличением биосинтеза антиоксидантных ферментов в процессе развития окислительного стресса (Pahl H.L., 1994).

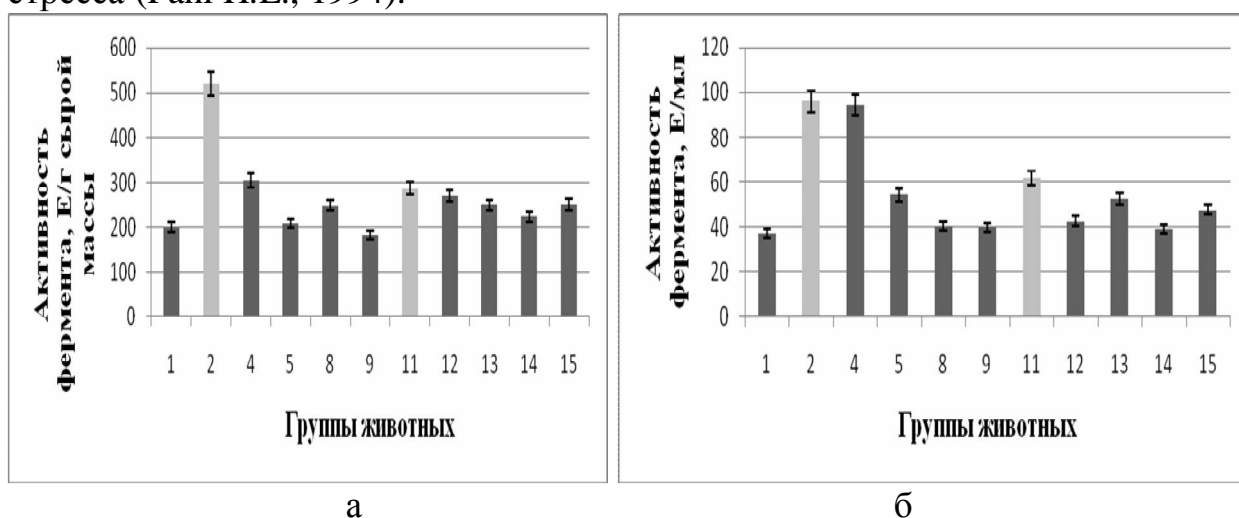


Рис. 4. Активность СОД в сердце (а) и сыворотке крови (б) животных контрольной группы (1), при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина (2) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (4) и 50 мг (5) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (8) и 50 мг (9), при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной развитием РА, (11) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (12) и 50 мг (13) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (14) и 50 мг (15)

Введение протекторов приводило к снижению активности СОД и каталазы в сердце и сыворотке крови крыс по сравнению с показателями животных при патологии. Так, при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 12,5, 25 и 50 мг/кг веса животного на фоне кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина, наблюдалось уменьшение активности СОД и каталазы в сердце, выраженной в Е на г сырой массы, в 1,5, 1,7, 2,5 и 1,1, 1,3, 1,8 раза соответственно (рис. 4). Введение 3,5-ДКМФБ в дозе 50 мг/кг веса животного, на фоне кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина, приводило к наиболее выраженному снижению активности СОД в сыворотке крови, рассчитанной в Е на мл, – в 1,8 раза. При использовании 3,5-ДКМФБ в дозе 25 мг на кг на фоне кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина, активность каталазы в сыворотке крови уменьшалась в 1,3 раза. Воздействие 2,4-ДМФБ оказывало сходное действие на активность СОД и каталазы при КН, индуцированными введением адреналина. При расчёте удельной активности ферментов в сердце и в сыворотке крови крыс сохранялись тенденции, характерные для активностей, выраженных в Е на грамм сырой массы миокарда и в Е на мл сыворотки.

При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на фоне РА в дозах 25 и 50 мг/кг веса животного наблюдалось снижение активности СОД, выраженной в Е на г сырой массы, в сердце в 1,1, 1,2 и 1,3, 1,2 раза, представленной в виде Е на мл сыворотки, - в 1,4, 1,2 и 1,6, 1,3 раза соответственно (рис. 4). Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозе 50 мг/кг на фоне РА приводило к снижению активности каталазы, выраженной в виде Е на г сырой массы и Е на мл, в сердце в 1,2 раза, в сыворотке крови - в 1,1 и 1,5 раза.

Полученные данные позволяют сделать заключение, что снижение степени мобилизации антиоксидантных ферментов, обеспечивающих обезвреживание O_2^- и H_2O_2 , по-видимому, сопряжено с уменьшением интенсивности СРП в условиях действия протекторов.

К важнейшим компонентам АОС организма относят глутатионпероксидазную / глутатионредуктазную (ГП/ГР) систему, использующую для детоксикации пероксидов восстановленный глутатион.

Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на фоне КН, индуцированных введением адреналина, в дозе 50 мг/кг веса животного сопровождалось снижением уровня GSH в сыворотке, увеличивающегося при патологии, в 1,4 и 1,1 раза. При введении 3,5-ДКМФБ в дозе 75 мг на кг наблюдалось уменьшение содержания GSH в сердце в 1,5 раза, в сыворотке крови – в 1,6 раза. Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на фоне данного патологического состояния в дозах 25, 50 и 75 мг на кг веса животного приводило к понижению активности ГП, увеличивающейся при патологии, что, вероятно, связано со снижением нагрузки на данный фермент (рис. 5). Так, например, при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг и 75 мг/кг активность ГП, выраженная в Е на г сырой массы, снижалась в сердце в 1,4, 2,3 и 1,7 раза. В данных условиях активность ГП в сыворотке крови также изменялась в сторону контрольных значений. Изменения удельной активности фермента сохраняли ту же тен-

денцию. Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на фоне развития КН, индуцированной введением адреналина, сопровождалось увеличением активности ГР, возрастающей при патологии, в сердце и сыворотке крови крыс, что может быть сопряжено с особенностями функционирования фермента при введении адреналина и синтетических производных бигуанида. Введение 3,5-ДКМФБ в дозах 12,5 мг/кг, 25 мг/кг и 50 мг/кг на фоне данного патологического процесса сопровождалось увеличением активности ГТ в сердце, снижающейся при патологии, выраженной в Е на г сырой массы, в 1,9, 1,5 и 1,1 раза соответственно. При введении 2,4-ДМФБ на фоне сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, прослеживался подобный эффект данного соединения на активность ГТ.

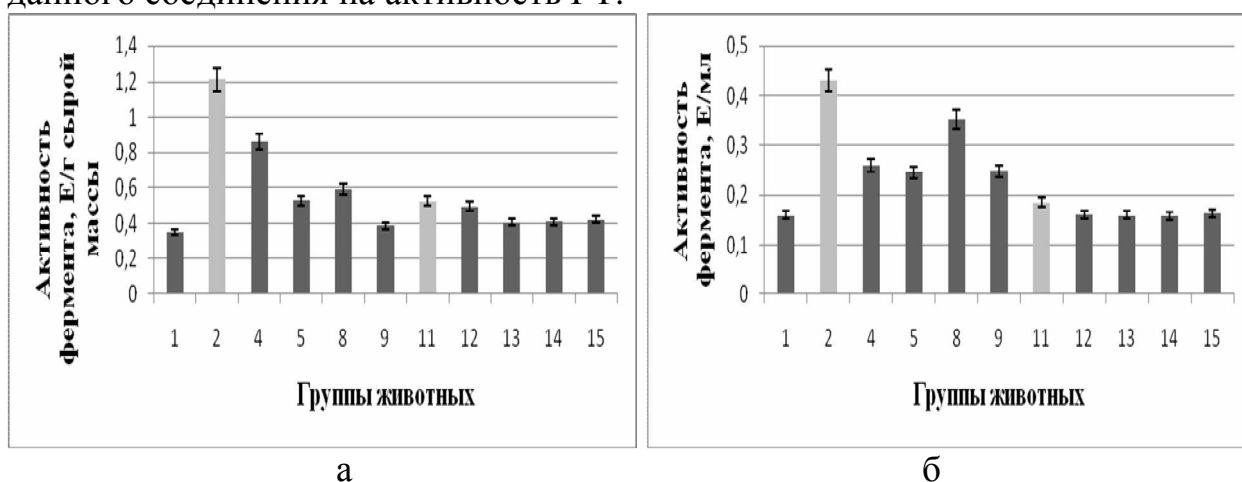


Рис. 5. Активность глутатионпероксидазы в сердце (а) и сыворотке крови (б) животных контрольной группы (1), при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина (2) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (4) и 50 мг (5) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (8) и 50 мг (9), при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной развитием РА, (11) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (12) и 50 мг (13) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (14) и 50 мг (15)

При внутрибрюшинном введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг было выявлено увеличение уровня GSH, снижающегося при КН, развивающегося на фоне РА, в сердце в 1,7 и 1,5 раза, в сыворотке крови – в 1,1 раза. Введение 2,4-ДМФБ в тех же дозах приводило к повышению содержания GSH в сердце в 1,3 и 1,8 раза, в сыворотке крови - в 1,1 раза относительно животных с РА. Введение исследуемых бигуанидов приводило к изменению активности ГП и ГР в сторону контрольных значений, по сравнению с их уровнем при сердечно-сосудистой патологии, развивающейся на фоне РА. Так, в условиях действия 3,5-ДКМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг в сердце было выявлено уменьшение активности ГП и ГР, выраженной в виде Е на г сырой массы, в 1,1, 1,3 раза и 1,2, 1,3 раза. При введении 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг активность ГП в сердце, представленная в Е на г сырой массы, снижалась в 1,3 раза (рис. 5); активность ГР, выраженная Е на г сырой массы миокарда, уменьшалась 1,3 и 1,1 раза соответственно. При воздействии 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг в наблюдалось снижение активности ГП в

сыворотке крови, рассчитанной в Е на мл, в 1,2 раза (рис. 5). Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг сопровождалось уменьшением активности ГР, представленной в виде Е на мл, на 14%, 21% и на 23%, 14%, относительно крыс с РА. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг, на фоне развития РА, было отмечено возрастание активности ГТ в сердце, выраженной в виде Е на г сырой массы, снижающейся при кардиоваскулярной патологии, в 1,3 раза. Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг способствовало увеличению активности ГТ, представленной Е на мл сыворотки, в 1,2, 1,3 раза и в 2,0, 1,9 раза. Сходные тенденции прослеживались при расчете удельной активности ферментов.

Таким образом, воздействие синтетических производных бигуанида на фоне кардиоваскулярной патологии сопровождалось изменением активности ряда ферментов глутатионовой антиоксидантной системы и уровня глутатиона в сторону контрольных значений. Полученные данные позволяют сделать вывод, что применение производных бигуанида способствует снижению интенсивности процессов СО биосубстратов, вследствие чего уменьшается активность ГП, изменяется активность ГТ, основными субстратами которых являются липопероксиды. Возможно, используемые протекторы способствуют ослаблению нагрузки на глутатионовую АОС на фоне развития ОС при КН за счет проявления антиоксидантных и кардиопротекторных свойств.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ 3,5-ДКМФБ И 2,4-ДМФБ НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА

В связи с тем, что основными поставщиками NADPH для работы глутатионовой АОС являются Г6ФДГ и NADP-ИДГ, было изучено изменение активности этих ферментов в тканях крыс при введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на фоне развития кардиоваскулярной патологии. На фоне развития сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, наблюдалось увеличение активности NADPH-генерирующих ферментов в сердце и сыворотке крови крыс. При действии 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ, на фоне КН, индуцированных введением адреналина, наблюдалось снижение активности Г6ФДГ в сердце и увеличение активности Г6ФДГ в сыворотке крови крыс. В сердце крыс наибольший эффект был выявлен при введении 3,5-ДКМФБ в дозе 25 мг на кг массы тела животного. При этом активность Г6ФДГ в сердце, выраженная в Е на грамм сырой массы, снижалась в 2,2 раза и достигала показателей нормы. При введении 2,4-ДМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг/кг массы тела животного активность Г6ФДГ в сердце, представленная в виде Е на грамм сырой массы, понижалась в 1,5, 2,0, 2,2 и 1,7 раза соответственно (рис. 6). В сыворотке крови крыс наблюдались противоположные тенденции. Так, при введении 2,4-ДМФБ в дозах 12,5, 25, 50 и 75 мг/кг массы тела животного активность Г6ФДГ в сыворотке крови, выраженная в Е на мл, увеличивалась в 1,6, 1,8, 1,9 и 1,5 раза соответственно, по сравнению с животными 2-й группы. Те же тенденции прослеживались и при расчете удельной активности фермента.

Введение 3,5-ДКМФБ в дозе 25 мг/кг веса животного приводило к наиболее выраженному снижению активности NADP-ИДГ как в сердце крыс, так и в сыворотке крови, по сравнению с активностью фермента при вышеуказанной патологии. Так, активность NADP-ИДГ в сердце, выраженная в Е на грамм сырой массы, уменьшалась в 1,6 раз, активность в сыворотке крови, представленная в Е на мл, снижалась в 2,6 раза. При введении 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг массы тела животного активность NADP-ИДГ в сердце, рассчитанная в Е на грамм сырой массы, понижалась в 1,5 и 1,7 раза, в сыворотке крови, представленная в Е на мл, уменьшалась в 1,3 раза.

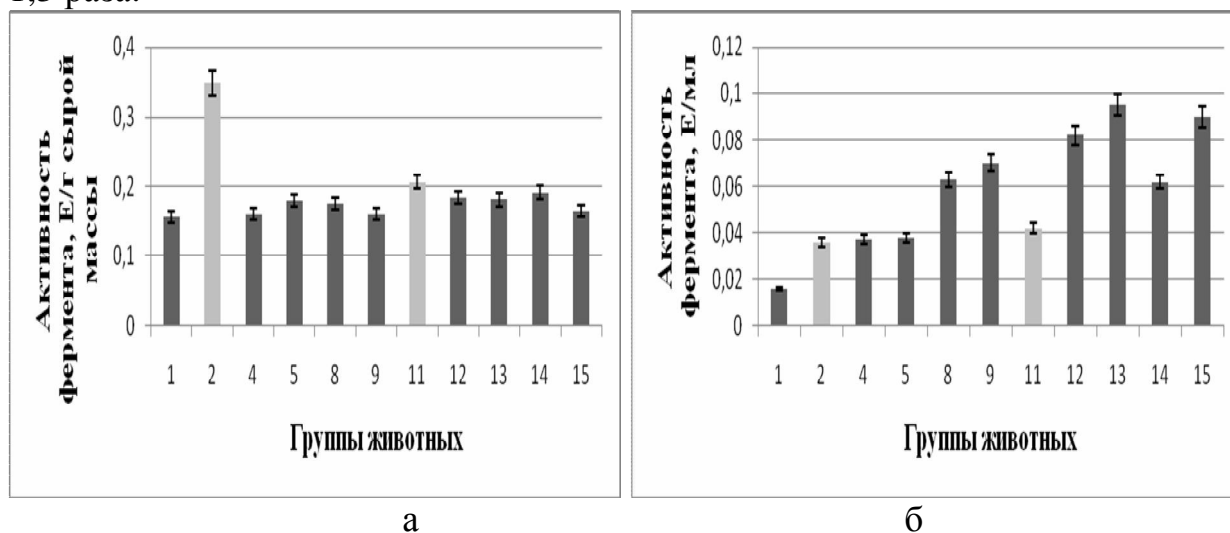


Рис. 6. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в сердце (а) и сыворотке крови (б) животных контрольной группы (1), при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина (2) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (4) и 50 мг (5) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (8) и 50 мг (9), при кардиоваскулярной патологии, индуцированной развитием РА, (11) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (12) и 50 мг (13) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (14) и 50 мг (15)

При действии 3,5-ДКМФБ наблюдалось снижение активности Г6ФДГ в сердце крыс и возрастание ферментативной активности в сыворотке крови животных с РА. Так, при введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг массы тела животного активность Г6ФДГ в сердце, выраженная в Е на грамм сырой массы, понижалась на 12%, 14% и 8%, 25%, по сравнению с животными с РА. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозах 25 и 50 мг/кг массы тела животного активность Г6ФДГ в сыворотке крови, выраженная в Е на мл, увеличивалась в 2,0, 2,2 и 1,5, 2,1 раза соответственно (рис. 6). Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ способствовало изменению активности NADP-ИДГ в направлении контрольных значений, как в сердце, так и в сыворотке крови экспериментальных животных, относительно значений при данной патологии. Снижение активности Г6ФДГ в сердце, а также изменение активности NADP-ИДГ в сторону контрольных значений, возможно, связано с уменьшением интенсивности СРП при введении исследуемых веществ и, как следствие, снижением потребности в NADPH

для работы ГП/ГР системы (Калинина Е.В., 2005). Увеличение Г6ФДГ-активности в сыворотке крови животных с сердечно-сосудистой патологией, индуцированной введением адреналина, может быть обусловлено специфической активацией эритроцитарной формы фермента под действием данного вещества (Schatz H., 1972).

Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ во всех исследуемых дозах приводило к возрастанию активности АГ, снижающейся при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА. Максимальный эффект, на фоне сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, был выявлен при введении бигуанидов в дозе 25 мг/кг веса тела животного. Так, при введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в дозе 25 мг/кг веса тела животного наблюдалось увеличение активности АГ в сердце, выраженной в Е на г сырой массы, в 1,6 и 2,4 раза, ферментативной активности в сыворотке крови, представленной в Е на мл, в 4,7 и 4,3 раза соответственно. Наибольший эффект, на фоне сердечно-сосудистой патологии, индуцированной развитием РА, был выявлен при введении исследуемых бигуанидов в дозе 50 мг на кг веса животного. Так, при введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в данной дозе наблюдалось увеличение активности АГ в сердце, выраженной в Е на г сырой массы, в 2,1 раза, активности в сыворотке крови, рассчитанной в виде Е на мл, - в 1,4 и 1,2 раза соответственно. При расчете удельной активности были выявлены сходные тенденции (рис. 7).

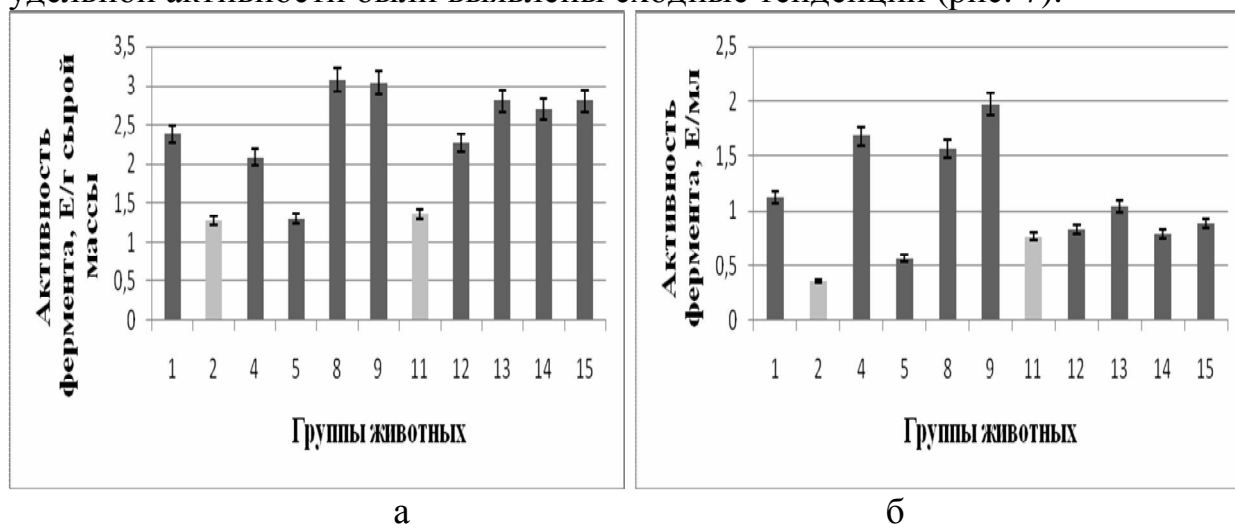


Рис. 7. Активность аконитатгидратазы в сердце (а) и сыворотке крови (б) животных контрольной группы (1), при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина (2) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (4) и 50 мг (5) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (8) и 50 мг (9) и 75 мг (10), при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной развитием РА, (11) и при введении 3,5-ДКМФБ в дозах 25 мг (12) и 50 мг (13) и 2,4-ДМФБ в дозах 25 мг (14) и 50 мг (15)

Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ во всех исследуемых дозах сопровождалось снижением содержания цитрата, увеличивающегося при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА. Так, например, введение 3,5-ДКМФБ в дозах 50 и 75 мг/кг веса жи-

вотного сопровождалось снижением уровня цитрата в сердце в 1,1 и 2,4 раза, в сыворотке крови в 1,2 и 1,6 раза соответственно, по сравнению с животными 2-й группы. Введение 3,5-ДКМФБ на фоне РА, в дозах 25 и 50 мг/кг приводило к уменьшению содержания цитрата в сердце в 1,3 и 2,0 раза, в сыворотке – в 1,2 и 1,3 раза. Введение 2,4-ДМФБ, на фоне КН при РА, в дозах 25 и 50 мг/кг сопровождалось снижением концентрации цитрата в сердечной мышце в 2,2 и 2,3 раза, в сыворотке крови – в 1,3 и 1,4 соответственно.

Таким образом, введение синтетических производных бигуанида приводило к изменениям активности АГ и содержания цитрата в направлении нормы, что, по-видимому, могло быть связано с наличием у данных веществ протекторных свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кардиоваскулярные патологии, индуцированные введением адреналина и развитием РА, характеризуются усилением генерации АФК и интенсификацией СРП. При этом наблюдаются структурно-функциональные повреждения биомембран, нуклеиновых кислот и белков, то есть важнейших компонентов клетки, что впоследствии может приводить к ее гибели (Ланкин В.З., 2000). Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о возможности коррекции нарушений метаболических процессов при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развивающейся на фоне РА, с помощью введения производных бигуанида.

В ходе работы, с помощью компьютерной программы PASS был проведен скрининг базы данных по структурам и были отобраны соединения: производные бигуанида – 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ, с предполагаемой антиоксидантной и кардиопротекторной активностью, которые в дальнейшем были протестированы на экспериментальных животных.

Введение исследуемых бигуанидов крысам с кардиоваскулярными нарушениями, индуцируемыми введением адреналина и развитием РА, приводило к снижению уровня активности КК-МВ и АсАТ, увеличивающегося при патологии. Можно предположить несколько механизмов, которые лежат в основе кардиопротекторного влияния бигуанидов – это эффекты улучшения микроциркуляции и снижения скорости развития атеросклероза и тромбообразования, свойственные, например, метформину (Балаболкин М. И., 2005), а также влияние на антиоксидантный статус организма.

При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на фоне кардиоваскулярной патологии при РА происходило снижение маркерных показателей развития РА (РФ, СОЭ, толщины щиколотки лапок крыс), возрастающих при данном патологическом состоянии.

Введение животным исследуемых бигуанидов на фоне развития кардиоваскулярной патологии приводило к существенному снижению критериев, отражающих уровень СРП. В частности, имело место уменьшение параметров БХЛ – S и I_{max} ; снижение концентрации ДК в сердце и сыворотке крови крыс. Следует отметить, что при воздействии 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ на фоне развития кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением

адреналина, уменьшался также уровень карбонильных групп модифицированных белков. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ менялась картина фрагментации ДНК: характерные апоптотические лестницы становились менее выраженными. При воздействии 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ снижался такой параметр БХЛ, как $\text{tg}\alpha_2$, отражающий общую антиоксидантную активность, что, очевидно, было сопряжено со снижением степени мобилизации АОС организма при замедлении темпов СРП. В основе протекторного действия может лежать хелатирование ионов Fe^{2+} , за счет наличия фенольного кольца в составе данных производных бигуанидов, что, по-видимому, также может способствовать уменьшению интенсивности протекания реакций Фентона и процессов ПОЛ в клеточных компартментах (рис. 8).

Установлено, что при введении бигуанидиновых производных имело место изменение активности СОД и каталазы в сердце и сыворотке крови крыс, увеличивающейся на фоне сердечно-сосудистой патологии в сторону контрольных значений, что может свидетельствовать о реализации антиоксидантного эффекта исследуемых соединений, снижающего нагрузку на данные ферменты АОС. Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ приводило к изменению активности ГП, ГТ и содержания GSH в направлении показателей нормы, относительно значений при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, что, подтверждает позитивное влияние используемых протекторов, способствующее ослаблению нагрузки на глутатионовую АОС на фоне развития окислительного стресса при данном патологическом процессе. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ наблюдалось повышение активности ГР по сравнению с ее уровнем при сердечно-сосудистой патологии, индуцированной введением адреналина, что, вероятно, обусловлено метаболическими изменениями, происходящими в сердечной мышце в условиях совместного действия адреналина и синтетических производных бигуанида. Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ при сердечно-сосудистой патологии, развивающейся на фоне РА, приводило к изменению активности ГП, ГР, ГТ и концентрации GSH в сердце и сыворотке крови крыс в сторону контрольных значений, по сравнению с их уровнем при патологии. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в сердце крыс наблюдалось снижение активности Г6ФДГ, увеличивающейся при сердечно-сосудистой патологии. В сыворотке крови животных с сердечно-сосудистой патологией наблюдалось возрастание активности Г6ФДГ под действием данных протекторов, что может быть связано со специфической активацией эритроцитарной формы фермента под действием бигуанидиновых производных (Schatz H., 1972). Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ способствовало изменению активности NADP-ИДГ в направлении контрольных значений как в сердце, так и в сыворотке крови экспериментальных животных, относительно значений при патологии. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ наблюдалось увеличение активности АГ в тканях крыс, снижающейся при КН, индуцированных введением адреналина и развитием РА, что, вероятно, обусловлено уменьшением степени повреждения железо-серного кластера фермента в условиях ре-

лизации антиоксидантных свойств исследуемых веществ. Это сопровождалось снижением содержания цитрата, что также может свидетельствовать об уменьшении уровня ОС в условиях действия исследуемых бигуанидов (рис. 8).

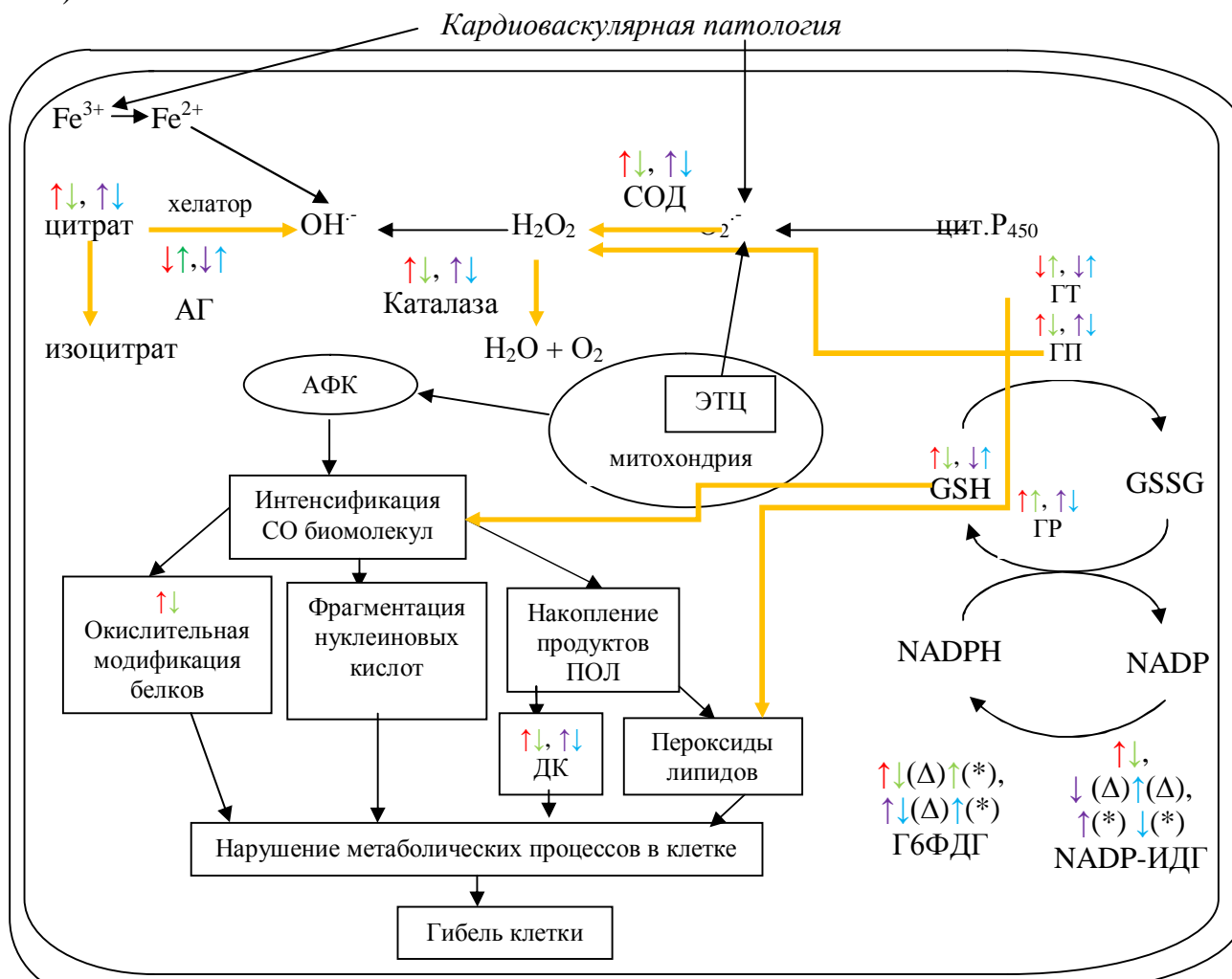


Рис. 8. Гипотетическая схема участия производных бигуанидов в регуляции свободнорадикального гомеостаза при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развивающейся на фоне экспериментального ревматоидного артрита

Условные обозначения: ↑, ↓ - увеличение и снижение значений исследуемых параметров при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина; ↑, ↓ - увеличение и снижение значений при кардиоваскулярной патологии, развивающейся на фоне РА; ↑, ↓ - увеличение и снижение значений при введении бигуанидов на фоне кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина; ↑, ↓ - увеличение и снижение значений при введении бигуанидов на фоне кардиоваскулярной патологии, развивающейся при РА; (Δ) – сердце экспериментальных животных; (*) – сыворотка крови экспериментальных животных; ← – антиоксидантный эффект.

Действие исследуемых производных бигуанидов носило дозозависимый характер. Так, наибольший протекторный эффект наблюдался при вве-

дении 3,5-ДКМФБ в дозе 50 мг/кг и 2,4-ДМФБ в дозе 25 мг/кг. Возможно, в большей дозе 2,4-ДМФБ оказывал токсический или прооксидантный эффект, как это свойственно некоторым веществам-антиоксидантам (Ohshima H., 1998.). Введение данных веществ в указанных дозах может быть связано со способностью используемых соединений выступать в качестве антиоксидантов и принимать участие в регуляции свободнорадикального гомеостаза в условиях развития ОС, обусловленного кардиоваскулярной патологией. Протекторный эффект действия производных бигуанида был более выражен в сердце крыс.

Резюмируя вышесказанное, можно сделать вывод о возможности коррекции нарушений метаболических процессов при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА, с помощью введения 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ. Полученные результаты исследования являются обоснованием антиоксидантного и кардиопротекторного действия 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ в определенных дозах при сердечно-сосудистой патологии, что представляет значительный интерес с точки зрения фармакологической коррекции метаболических сдвигов при данном патологическом состоянии. Данные, полученные в ходе работы, могут быть применены при разработке антиоксидантных и кардиопротекторных препаратов на основе 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ для профилактики и лечения кардиоваскулярных нарушений.

ВЫВОДЫ

1. Введение 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида (3,5-ДКМФБ) и 2,4-диметоксифенилбигуанида (2,4-ДМФБ) приводило к снижению активностей креатинкиназы-МВ и аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови крыс, увеличивающихся при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развивающейся при ревматоидном артрите (РА), что отражает уменьшение степени цитолиза кардиомиоцитов и свидетельствует о наличии кардиопротекторных свойств у данных производных бигуанидов. Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ приводило к изменению маркерных показателей развития РА, возрастающих при патологии, в направлении нормы.

2. Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ при кардиоваскулярной патологии сопровождалось снижением уровня свободнорадикальных процессов, подтверждаемым уменьшением концентрации диеновых конъюгатов, содержания карбонильных групп и параметров БХЛ – S и I_{max}, в тканях экспериментальных животных, что свидетельствует о возможности проявления данными протекторами антиоксидантных свойств, направленных на подавление чрезмерного образования АФК при патологии сердечной мышцы.

3. Введение названных протекторов способствует уменьшению фрагментации ДНК, отражающей степень развития процессов апоптоза.

4. При введении бигуанидиновых производных экспериментальным животным было выявлено изменение активности СОД и каталазы в сторону контрольных значений, что может свидетельствовать о реализации антиокси-

дантного эффекта исследуемых соединений, снижающего нагрузку на данные ферменты антиоксидантной системы.

5. Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ приводило к изменению активности глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы и содержания GSH в направлении показателей нормы, относительно значений при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ наблюдалось повышение активности глутатионредуктазы по сравнению с ее уровнем в данном патологическом состоянии.

6. Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ при кардиоваскулярной патологии, развивающейся на фоне РА, приводило к изменению активности глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы и содержания восстановленного глутатиона в сторону контрольных значений, по сравнению с их уровнем при патологии.

7. При введении 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ наблюдалось снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в ткани сердца крыс по сравнению с уровнем при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА. В сыворотке крови животных наблюдалось возрастание активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы под действием данных протекторов, что может быть связано со специфической активацией эритроцитарной формы фермента под действием бигуанидиновых производных.

8. Введение 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ способствовало изменению активности NADP-изоцитратдегидрогеназы в сторону контрольных значений как в сердце, так и в сыворотке крови экспериментальных животных, относительно значений при патологии.

9. Воздействие 3,5-ДКМФБ и 2,4-ДМФБ сопровождалось изменением активности аконитатгидратазы и содержания цитрата в ткани миокарда и сыворотке крови крыс в направлении нормы.

10. Наибольший протекторный эффект наблюдался при введении 3,5-ДКМФБ в дозе 50 мг/кг и 2,4-ДМФБ в дозе 25 мг на кг веса животного, что приводило к наиболее значительному изменению большинства исследуемых параметров в направлении нормы. Протекторный эффект производных бигуанида был выражен в большей степени в сердце крыс.

11. На основании проведенных исследований предложена гипотетическая схема участия производных бигуанидов в регуляции свободнорадикального гомеостаза организма при кардиоваскулярной патологии, индуцированной введением адреналина и развитием РА.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ РАБОТЫ

1. *Таныгина Е.С. Влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида на свободнорадикальный гомеостаз при экспериментальном миокардите у крыс / Е.С. Таныгина, Т.Н. Попова, А.В. Семенихина, Л.В. Матасова, Е.Д. Крыльский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2012. – Т. 154, № 8. – С. 154 - 157.
2. *Таныгина Е.С. Дозозависимое влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида на активность глутатионового звена антиоксидантной системы в

сердце и сыворотке крови крыс при экспериментальном инфаркте миокарда / Е.С. Таныгина, Т.Н. Попова, А.В. Семенихина, Л.В. Матасова, Е.Д. Крыльский // Биомедицинская химия. - 2013. – Т. 59, № 6. – С. 655 - 661.

3. *Таныгина Е.С. Влияние 2,4-диметоксифенилбигуанида на антиоксидантный статус в сердце и сыворотке крови крыс при инфаркте миокарда / Е.С. Таныгина, Т.Н. Попова, А.В. Семенихина, Л.В. Матасова // Хим.-фарм. журнал. – 2013. – Т. 47, № 4. – С. 9 – 12.

4. Власова Е.С. Влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида на параметры биофлуоресценции в сердце и сыворотке крови крыс при адреналиновом миокардите / Е.С. Власова, А.В. Семенихина, Т.Н. Попова, Е.Д. Крыльский, И.Н. Карлина // XXI Съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова : тез. докл. — М.; Калуга, 2010 . — С. 120 - 121.

5. Крыльский Е.Д. Функционирование системы детоксикации супероксидного анион-радикала в сердце и сыворотке крови крыс при адреналиновом миокардите и действии 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида / Е.Д. Крыльский, Е.С. Таныгина, Т.Н. Попова, А.В. Семенихина, Л.В. Матасова // Биомедицинская инженерия и биотехнология: материалы IV всерос. научн.-практич. конф. с междунар. участием. – Курск. – 2011. — С. 129 - 132.

6. Таныгина Е.С. Влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида на активность супероксиддисмутазы и каталазы в сердце и сыворотке крови крыс при экспериментальном инфаркте миокарда / Е.С. Таныгина, Е.Д. Крыльский, М.В. Пусташова, И.Б. Гладченко, Е.В. Крайнова // Актуальные проблемы патофизиологии 2012: материалы XVIII межгородской научной конференции молодых учёных, С. Петербург, 25-26 апреля, 2012 г. – С. Петербург, 2012. – С. 126-127.

7. Таныгина Е.С. Влияние 2,4-диметоксифенилбигуанида на параметры биофлуоресценции в тканях крыс при экспериментальном инфаркте миокарда / Е.С. Таныгина, А.В. Семенихина, Т.Н. Попова, Е.Д. Крыльский, Л.В. Матасова, М.В. Пусташова, О.Е. Лемешко // Сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 75-летию со дня рождения В.В. Кормачева (Чебоксары, 19-20 апреля 2012 г.), Чебоксары, Изд-во Чуваш. ун-та, 2012. С.- 183-184.

8. Таныгина Е.С. Влияние 2,4-диметоксифенилбигуанида на активность супероксиддисмутазы и каталазы в сердце и сыворотке крови крыс при экспериментальном инфаркте миокарда / Е.С. Таныгина, Е.Д. Крыльский, М.В. Пусташова, А.В. Семенихина, Л.В. Матасова // Сборник научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова, Ярославль: ООО «Издательско-полиграфический центр «Индиго», Ярославль, 18-20 апреля, 2012г. – С. 66.

9. Власова Е.С. Влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ-изоцитратдегидрогеназы в тканях крыс при адреналиновом миокардите и влиянии 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида / Е.С. Власова, Е.А. Огнева, О.Е. Лемешко,

Е.В. Бабенко, А.В. Семенихина // Биологические науки: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Т. II. — Уфа: РИЦ БашГУ, 2010. — С. 487 - 491.

10. Таныгина Е.С. Воздействие 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида и 2,4-диметоксифенилбигуанида на интенсивность свободнорадикальных процессов в сердце и сыворотке крови крыс при кардиоваскулярной патологии, возникающей на фоне экспериментального ревматоидного артрита / Е.С. Таныгина, Л.Д. Елфимова, Т.Н. Попова // Международная научно-практическая конференция: «Наука XXI века: теория, практика и перспективы». – Уфа. – 2015. – С. 29 - 32.

11. Таныгина Е.С. Влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида и 2,4-диметоксифенилбигуанида на активность супероксиддисмутазы и каталазы в сердце и сыворотке крови крыс при кардиоваскулярных нарушениях, возникающих на фоне ревматоидного артрита / Е.С. Таныгина, Т.Н. Попова, А.В. Семенихина // II Международная научно-практическая конференция: «Наука и общество в условиях глобализации». – Уфа. – 2015. - С. 5 – 8.

12. Таныгина Е.С. Влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида и 2,4-диметоксифенилбигуанида на активность некоторых NADPH-продуцирующих ферментов в тканях крыс при кардиоваскулярной патологии, развивающейся при ревматоидном артрите / Е.С. Таныгина, Л.Д. Елфимова, А.В. Семенихина, Т.Н. Попова // Международная научно-практическая конференция: «Естественно-научные исследования и народное хозяйство». Научные публикации. – Воронеж. – Т. 1, № 3 (23). – 2015. – С. 12 – 18.

13. Таныгина Е.С. Влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида и 2,4-диметоксифенилбигуанида на активность аконитатгидратазы и содержание цитрата в сердце и сыворотке крови крыс при кардиоваскулярных нарушениях, возникающих на фоне ревматоидного артрита / Е.С. Таныгина, Л.Д. Елфимова, Т.Н. Попова // II Международная научно-практическая конференция: «Наука и образование: инновации, интеграция и развитие». – Уфа. – 2015. – С. 3 – 5.

Статьи № 1*, 2*, 3* опубликованы в печатных изданиях, состоящих в списке журналов, рекомендованных ВАК РФ.