

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК-615.214.3.03:612.766.1
DOI 10.17816/pmj34681-86

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА НА ФОРМИРОВАНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

А.В. Катаев

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

INFLUENCE OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES ON FORMATION OF OXIDATIVE STRESS UNDER PHYSICAL LOAD

A.V. Kataev

Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

Цель. Изучить влияние производных бензимидазола на формирование оксидативного стресса при действии физической нагрузки.

Материалы и методы. Физическая нагрузка вызывалась на интактных беспородных крысах-самцах плаванием ежедневно в течение 21 дня. Физическая нагрузка плаванием – удобная модель мышечной работы и может быть дозирована. Она как насильственная для крыс процедура вызывала стресс, развитие которого контролировали по изменению показателей массы надпочечников и количества лейкоцитов в крови животных.

Результаты. Нарушались поведенческие реакции, в гомогенатах печени и мозга снижалась антиоксидантная активность, повышалось содержание продуктов перекисного окисления, возрастала интенсивность хемиллюминесценции.

Выводы. Негативные проявления развившегося психоэмоционального и оксидативного стресса сдерживались введением дибазола и синтезированной калиевой соли 2-[1-(1,1-диоксотетанил-3)бензимидазол-2-тио]уксусной кислоты.

Ключевые слова. Производные бензимидазола, физическая нагрузка, психоэмоциональный и оксидативный стресс.

Aim. To study the influence of benzimidazole derivatives on the formation of oxidative stress under the impact of physical load.

Materials and methods. Physical load (PL) was induced on intact outbred male rats by daily swimming for 21 days. Physical load, induced by swimming, is a convenient model of muscular work and it can be dosed. It,

© Катаев А.В., 2017

тел. +7 987 252 65 55

e-mail: anton.kataev@mail.ru

[Катаев А.В. – аспирант центральной научно-исследовательской лаборатории].

as a forced for rats procedure, caused stress, the development of which was controlled by changes in adrenal mass indices and blood leucocyte number in the animals.

Results. The impaired behavioral reactions, decreased antioxidant activity in the liver and brain homogenates, elevated peroxidation product content, raised hemiluminescence intensity was detected.

Conclusions. Negative manifestations of the developed psychoemotional and oxidative stress were restrained by the introduction of dibazol and synthesized potassium salt 2-[1-(1,1-dioxothietanyl-3)benzimidazolyl-2-thio] acetic acid.

Key words. Benzimidazole derivatives, physical load, psychoemotional and oxidative stress.

ВВЕДЕНИЕ

В формировании системного ответа организма на различные экстремальные факторы значительная роль отводится процессам свободнорадикального окисления (СРО). Особое внимание обращается на образование активных форм кислорода (АФК) и перекисное окисление липидов (ПОЛ). В физиологических условиях СРО является жизненно важным биологическим процессом, а свободные радикалы (СР) представляют собой продукты нормальной жизнедеятельности [4, 9, 16]. Они способны влиять на обмен веществ, биологические мембраны, эндотелий сосудов, гормоны и т.д. СР участвуют в формировании защитных механизмов, в частности, детоксикации чужеродных соединений. В то же время избыток СР в организме вызывает повреждения, обобщенно названные оксидативным стрессом (ОС) [12, 13, 16]. Регулятором процессов СРО в организме является антиоксидантная система (АОС), сдерживающая развитие оксидативного стресса, предупреждающая повреждение клеток свободными радикалами и токсическими продуктами окисления [13].

При избыточном образовании СР и продуктов окисления происходит истощение АОС. Этому способствует тот факт, что в настоящее время постоянно возрастает количество негативных воздействий, которые ведут к увеличению интенсивности образования СР

и нарушению регуляции СРО, что приводит к формированию различных заболеваний. Своевременное выявление и коррекция СРО повышают эффективность профилактики и лечения широкого спектра типовых патологических процессов, связанных с ОС. В связи с этим возникает необходимость поддержания СРО в организме на оптимальном уровне, а поиск фармакологических препаратов, регулирующих процессы СРО, не теряет своей актуальности, имеет научную новизну и практическую значимость.

За последние годы в Башкирском государственном медицинском университете синтезировано значительное количество новых производных бензимидазола (ПБИМ) [8]. ПБИМ представляют перспективный класс гетероциклических соединений, обладающих различными биологическими свойствами. Ярким представителем ПБИМ является дибазол, синтезированный еще в 40-х гг. XX столетия, который нашел широкое применение в медицине.

В ряде работ указывается, что различные производные бензимидазола проявляют высокую АОА в модельных системах *in vitro* [3, 17]. Но результаты исследований *in vivo* противоречивы. Так, изучение фунгицидов, синтезированных на основе бензимидазола, показало, что они оказывают прооксидантное действие на ткань печени [7]. У 2-фуран-2-ил-1H-бензимидазола выявлена способность инициировать СРО. В то же время введение ряда ПБИМ пре-

дотвращало развитие оксидативного стресса в органах при ишемии–реперфузии [6]. Влияние новых ПБИМ на процессы СРО в модельных системах, а также *in vivo* в норме и при патологии, вызванной ОС, остается малоизученным.

В предыдущих наших исследованиях [11] было показано, что ПБИМ обладают антиоксидантной активностью *in vitro*: подавляют образование АФК и ПОЛ в различных модельных системах. Степень выраженности этой активности зависела от структуры молекулы. Наибольшая АОА была выявлена у дибазола, соединений, содержащих NO_2 -группы в кольце, и синтезированной калиевой соли 2-[1-(1,1-диоксотетанил-3)бензимидазол-2-тио]уксусной кислоты (К-2.152). Исследование острой токсичности К-2.152 у мышей и крыс позволило отнести данное вещество к 4-му классу токсичности химических веществ (малоопасные).

Цель исследования – изучение влияния дибазола и К-2.152 на формирование оксидативного стресса при действии физической нагрузки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Физическая нагрузка (ФН) вызывалась у интактных беспородных крысах-самцах плаванием по методике, предложенной М.Л. Рыловой [14]. Животные подвергались вышеописанной процедуре ежедневно в течение 21 дня. Плавание животных используется как удобная модель мышечной работы, которая может быть дозирована. Она как насильственная для крыс процедура является стрессорным фактором для животных. В качестве контроля за развитием стресса использовали исследования изменения показателей массы надпочечников и количества лейкоцитов в крови опытных животных.

Первая группа животных служила контролем. Вторая группа подвергалась ежедневной физической нагрузке, а животным третьей и четвертой групп дополнительно вводили внутривенно исследуемые соединения в дозе 50 мг/кг в виде суспензии на 2%-ной крахмальной слизи. Животных содержали по правилам, принятым Европейской конвенцией по защите животных (ETS-123 Strasbourg 1986). В конце эксперимента животных декапитировали согласно действующим правилам проведения работ с экспериментальными животными и методическим рекомендациям по их выведению из эксперимента и эвтаназии [10].

Поведенческие реакции животных оценивались в тесте «открытое поле» [1, 2].

Для приготовления гомогенатов органов навеску ткани отмывали охлажденным фосфатным буфером, измельчали и заливали фосфатным буфером в соотношении 1:5 (вес:объем), гомогенизировали в механическом гомогенизаторе 5 мин при температуре +4 °С.

Общую АОА в гомогенатах органов определяли, используя стандартный тест-набор Total antioxidant status фирмы Randox Laboratories (Великобритания). Для определения одного из продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида использовали набор реактивов «ТБК – Агат». Количество ТБК выражали в единицах оптической плотности D_{535} . Молярный коэффициент поглощения составляет $1,56 \cdot 10^5 \text{ м}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Об интенсивности образования радикалов судили по уровню хемилюминесценции (ХЛ) – свечения, возникающего при взаимодействии свободных радикалов. Регистрацию свечения проводили на приборе «ХЛМ-003» (Россия) [15].

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась на персональном

компьютере с помощью пакета компьютерных программ Statistica for Windows (release 6.0), с использованием прикладных программ Microsoft Excel 2000, Microsoft Access. В качестве описательных статистик использованы средняя (M) и ошибка средней (m). Группы сравнивались при помощи t -критерия Стьюдента для независимых переменных. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05 [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из табл. 1, плавательная нагрузка вызывала достоверное увеличение массы надпочечников и количества лейкоцитов в крови, что трактуется в качестве

косвенной характеристики стресса. Введение животным К-2.152 и дибазола препятствовало развитию этих симптомов.

Плавательная нагрузка вызывала изменение поведенческих реакций животных: достоверно снижались показатели коэффициента подвижности и общая исследовательская активность, а показатель эмоциональной тревожности увеличивался. Введение животным К-2.152 и дибазола в условиях ФН позволяло сохранить подвижность и общую исследовательскую активность, снизить эмоциональную тревожность.

Влияние длительной физической нагрузки и ПБИМ на развитие оксидативного стресса у животных представлено в табл. 2.

Таблица 1

Изменения количества лейкоцитов в крови, массы надпочечников и поведенческих реакций животных при физических нагрузках и на фоне приема ПБИМ

Объект исследования	Контроль	ФН	ФН+К-2.152	ФН+Дибазол
Масса надпочечников (мг)	0,067 ± 0,004	0,085 ± 0,004*	0,069 ± 0,003	0,068 ± 0,003
Количество лейкоцитов (10 ⁹ /л)	5,68 ± 0,18	8,19 ± 0,12*	6,16 ± 0,27	6,18 ± 0,22
Коэффициент подвижности	3,82 ± 0,15	2,74 ± 0,2*	4,08 ± 0,18	3,47 ± 0,22
Общая исследовательская активность	33,24 ± 1,9	26,22 ± 1,1*	37,52 ± 1,8	29,63 ± 3,1
Эмоциональная тревожность	13,58 ± 1,2	20,8 ± 1,6*	12,84 ± 0,8	11,41 ± 1,8

Примечание: * – статистически достоверные отличия от контроля ($p < 0,05$).

Таблица 2

Изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов, общей антиоксидантной активности, интенсивности хемиллюминесценции в гомогенатах мозга и печени животных при физических нагрузках и введении ПИБМ

Объект исследования	Контроль	ФН	ФН+К-2.152	ФН+Дибазол
<i>ТБК-активные продукты (Д₅₃₂)</i>				
Мозг	0,34 ± 0,01	0,42 ± 0,01*	0,35 ± 0,02	0,37 ± 0,04
Печень	0,36 ± 0,01	0,42 ± 0,02*	0,31 ± 0,01	0,32 ± 0,05
<i>Общая антиоксидантная активность (усл. ед.)</i>				
Мозг	3,66 ± 0,3	2,38 ± 0,1*	3,91 ± 0,1	3,61 ± 0,2
Печень	3,81 ± 0,2	2,76 ± 0,2*	3,71 ± 0,2	3,82 ± 0,1
<i>Хемиллюминесценция (усл. ед.)</i>				
Мозг	11,58 ± 0,49	16,9 ± 0,68*	10,62 ± 0,37	8,3 ± 0,31
Печень	25,02 ± 0,94	42,88 ± 2,7*	23,04 ± 1,4	19,2 ± 1,1

Примечание: * – статистически достоверные отличия ($p < 0,05$).

Как видно из табл. 2, в гомогенатах мозга и печени, а также плазме крови животных увеличивалось содержание ТБК-активных продуктов и снижалась общая антиоксидантная активность. Введение К-2.152 и дибазола препятствовало накоплению продуктов перекисного окисления липидов в гомогенатах мозга и печени. Общая антиоксидантная активность в исследуемых образцах сохранилась.

После ФН интенсивность хемилюминесценции гомогенатов мозга и печени увеличивалась, что также свидетельствовало об ускорении ПОЛ. Введение К-2.152 и дибазола способствовало их сохранению на уровне контрольных значений.

В целом К-2.152 и дибазол как в модельных системах *in vitro*, генерирующих активные формы кислорода и в которых протекают реакции перекисного окисления липидов, имитирующие наиболее распространенные в организме реакции свободно-радикального окисления, так и *in vivo* проявляют антиоксидантные свойства. При введении животным повышают общую антиоксидантную активность в гомогенатах мозга и печени, снижают интенсивность перекисного окисления липидов, предотвращают развитие оксидативного стресса. Полученные данные расширяют представления о влиянии ПБИМ на формирование оксидативного стресса при действии экстремальных факторов.

Выводы

Длительные физические нагрузки в виде плавательного теста вызывали у животных оксидативный и психоэмоциональный стресс, негативные проявления которого сдерживались введением дибазола и синтезированной калиевой соли 2-[1-(1,1-диоксотетанил-

3)бензимидазол-2-тио]уксусной кислоты (К-2.152).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Абуладзе Г.В. Изучение эмоциональности крыс и мышей в поведенческих и фармакологических экспериментах методом «открытое поле». Известия АН СССР. Серия: Биология 1983; 9 (3): 156–165.

2. Амикишева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование. Вестник ВОГиС 2009; 13 (3): 529–542.

3. Анисимова В.А. Спасов А.А., Толтыгин И.Е., Минкин В.И., Черников М.В., Яковлев Д.С., Стуковина А.Ю., Горягин И.И., Гречко О.Ю., Кириллова Н. В., Косолатов В. А., Тибирькова Е.В., Салазникова О.А., Науменко Л.В., Гурова Н.А. Синтез и фармакологическая активность 9-*R*-2-галогенфенилимидазо [1, 2-*a*] бензимидазолов. Химико-фармацевтический журнал 2008; 44 (7): 7–13.

4. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах. Соросовский образовательный журнал 2000; 6 (12): 13–19.

5. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика 1999; 459.

6. Гурова Н.А. Производные бензимидазолов – новый класс кардиопротекторных средств: автореф. дис. ... д-ра мед. наук, Волгоград 2015; 48.

7. Давлетов Р.Д., Чикишева Г.Е., Галиахметов Р.Н. Поиск экологически менее вредных фунгицидов в ряду производных бензимидазола. Башкирский химический журнал 2010; 17 (2): 28–32.

8. Дианов В.М. Синтез и антиоксидантные свойства 3-метилзамещенных тиазоло [3, 2-*a*] бензимидазола. Химико-фармацевтический журнал 2006; 41 (6): 20–21.

9. *Дубинина Е.Е.* Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса 2006; 397.

10. *Каркищенко Н.Н., Грачев С.В.* Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль 2010; 358.

11. *Катаев А.В., Фархутдинов Р.Р., Гизатуллин Т.Р.* Исследование воздействия производных бензимидазола на процессы свободнорадикального окисления. Медицинский вестник Башкортостана 2014; 9 (2): 204–206.

12. *Мартусевич А.К., Карузин К.А.* Оксидативный стресс и его роль в формировании дизадаптации и патологии. Биорадикалы и антиоксиданты. 2015; 2 (2): 5–18

13. *Менищикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К.* Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово 2006; 556.

14. *Рылова М.Л.* Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. М.: Медицина 1964; 230.

15. *Фархутдинов Р.Р., Тевдорадзе С.И.* Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003. Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ. М.: РУДН 2005; 147–154.

16. *Фархутдинов Р.Р.* Свободнорадикальное окисление: мифы и реальность (избранные лекции). Медицинский вестник Башкортостана 2006; 1: 146–152.

17. *Хубаева Т.О., Хубаева И.В.* Синтез, свойства и антиоксидантная активность производных бензимидазола с фрагментом пространственно-затрудненного фенола. Вестник Воронежского государственного университета. 2014. Серия: Химия. Биология. Фармация 2014; 3: 42–47.

Материал поступил в редакцию 08.09.2017