

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА И ТИЕТАНУРАЦИЛА НА ОКСИДАТИВНЫЙ И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТРЕСС У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Петрова И. В., Катаев В. А., Баймурзина Ю. Л., Мочалов К. С., Фархутдинов Р. Р.

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, e-mail: cnilbgmu@yandex.ru

Исследовано влияние новых производных пиримидина (ПП) и тиетанурацила (ТУ) на оксидативный и психоэмоциональный стресс у лабораторных крыс. Для создания психоэмоционального напряжения и оксидативного стресса животных подвергали плавательной нагрузке. О развитии стресса судили по изменению массы надпочечников и количества лейкоцитов периферической крови. Уровень оксидативного стресса оценивали по процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенатах печени и мозга крыс методом регистрации хемилюминесценции (ХЛ) и по содержанию малонового диальдегида (МДА). Состояние психоэмоционального стресса определяли по поведенческим реакциям лабораторных животных в тесте открытое поле. Результаты исследования показали, что ФН вызывает развитие стрессорных реакций. Увеличивается масса надпочечников и растет общее количество лейкоцитов крови. Развивается оксидативный стресс: запускаются реакции ПОЛ в гомогенатах мозга и печени крыс. Введение животным ПП и ТУ сохраняет массу надпочечников и уровень лейкоцитов. Снижается интенсивность ХЛ и МДА в гомогенатах печени и мозга, что свидетельствует о замедлении ПОЛ. Модель ФН в эксперименте также вызывает психоэмоциональный стресс, сопровождаемый нарушением поведенческих реакций. Введение исследуемых ПП и ТУ лабораторным животным на фоне ФН сохраняет поведенческую активность. Таким образом, исследуемые производные предохраняют животных одновременно как от оксидативного, так и психоэмоционального стресса, вызванных физической нагрузкой.

Ключевые слова: оксидативный стресс, психоэмоциональный стресс, пиримидины, тиетаны, поведение, хемилюминесценция.

INFLUENCE OF PYRIMIDINE DERIVATIVES AND URACIL THIETHANES ON OXIDATIVE AND PSYCHO-EMOTIONAL STRESS IN LABORATORY ANIMALS

Petrova I. V., Kataev V. A., Bajmurzina J. L., Mochalov K. S., Farkhutdinov R. R.

Bashkirian State Medical University, Ufa, e-mail: cnilbgmu@yandex.ru

The effects of new pyrimidine derivatives and uracil thiethanes on oxidative and psycho-emotional stress in laboratory rats are studied. The animals were swimming load to create emotional and oxidative stress. The level of oxidative stress was evaluated by lipid peroxidation in the liver and brain homogenates of rats by recording chemiluminescence and content of malondialdehyde. Emotional stress was determined by the behavioral reactions of animals in the open field test. Adrenal weight and the number of peripheral blood leukocytes were also measured. The results showed that exercise causes oxidative stress. Lipid peroxidation was amplified in the brain homogenates and liver of experimental animals. Pyrimidine derivatives reduced the intensity of chemiluminescence and malondialdehyde in the brain and liver homogenates. Lipid peroxidation was reduced. Exercise causes the psycho-emotional stress. Behavioral responses were violated. Adrenal mass and total white blood cell count has been increased. Pyrimidine derivatives normalize behavioral activity, adrenal weight and leucocyte level during physical exertion. Thus, pyrimidine derivatives protect animals from both oxidative and emotional stress caused by physical exertion.

Keywords: oxidative stress, psycho-emotional stress, pyrimidines, thiethanes, behavior, chemiluminescence.

В настоящее время оксидативный стресс рассматривается как совокупность процессов, вызывающих повреждение молекул, клеток и тканей собственного организма в результате избыточного образования окислителей – свободных радикалов. С процессами оксидативного стресса напрямую связан и стресс психоэмоциональный – основа развития многих психических расстройств. Установлено, что избыточное образование свободных

радикалов, обладающих высокой реакционной способностью и запускающих оксидативный стресс, является общим патогенетическим механизмом в развитии физического перенапряжения, эмоциональных и поведенческих нарушений [1]. Показано, что при физическом перенапряжении в крови увеличивается число инициаторов свободно-радикального окисления [8], усиливается генерация свободных радикалов активных форм кислорода, перекисей липидов; снижается энергообеспечение клеток за счет процессов окислительного фосфорилирования [9].

В этой связи актуальной проблемой является направленный поиск фармакологических субстанций, обладающих способностью корректировать одновременно как процессы оксидативного, так и психоэмоционального стресса.

В Башкирском государственном медицинском университете (БГМУ) на протяжении многих лет ведется поиск биологически активных веществ среди новых производных пиримидина (ПП), в частности, синтезированных под руководством д.фарм.н. В. А. Катаева [2]. Пиримидины – шестичленные гетероциклы, имеющие плоскую молекулу с двумя атомами азота, которые находятся в положении 1,3. Известно, что пиримидины (структурные элементы нуклеиновых кислот) обладают иммуномодулирующей активностью, которая направлена на все звенья системы иммунитета: факторы неспецифической защиты, клеточное и гуморальное. Помимо этого, они проявляют антикатаболические, анаболические, кардиотонические и гепатопротекторные свойства, таким образом, обладая патогенетической значимостью для выраженных иммунопротективных эффектов. Производные пиримидинов низкотоксичны и не накапливаются в организме, обладая при этом достаточно высокой скоростью выведения. Исследования, проведенные в Центральной научно-исследовательской лаборатории БГМУ, показали, что в ряду ПП, содержащих тиетановый цикл (тиетанурацилы – ТУ), есть соединения, обладающие высокой антиоксидантной активностью *in vitro* [4] и являющиеся перспективными соединениями для коррекции окислительного стресса *in vivo* [5]. Наряду с детальным изучением способности этих соединений корректировать процессы оксидативного стресса, также представляет интерес определение их способности к регуляции психоэмоционального стресса.

С учетом изложенного, **целью нашего исследования** явилось изучение влияния производных пиримидина и тиетанурацила на оксидативный и психоэмоциональный стресс у лабораторных животных.

Материалы и методы

В работе использованы новые производные пиримидина и тиетанурацила, синтезированные в Башкирском государственном медицинском университете, условно обозначенные под номерами: I (5-гидрокси-6-метилурацил), IX (5-гидрокси-6-метил-1-

(тиетанил-3)урацил) , X (6-метил-5-морфолинометил-1) (тиетанил-3) урацил.

Эксперимент проводился на 50 белых нелинейных крысах массой 200–220 г. Животные подвергались плавательной физической нагрузке (ФН) по методике, предложенной Рыловой М. Л. и Burgin et al [6,10]. Плавание максимальной длительности сопровождается тяжелой мышечной работой и не случайно служит наряду с другими неблагоприятными физическими и химическими факторами для создания у животных состояния психоэмоционального напряжения и оксидативного стресса. Животные были разделены на пять групп. Первая группа – интактные животные (контроль), вторая – ежедневно испытывала ФН, третья испытывала физическую нагрузку и получала субстанцию I (I+ФН), четвертая испытывала физическую нагрузку и получала соединение IX (IX+ФН), пятая подвергалась физической нагрузке и получала производное тиетанурацила (X+ФН). Соединения вводились внутривенно в виде суспензии на 2 % крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг в течение 24 дней.

О развитии стрессорных реакций судили по изменениям массы надпочечников и количества лейкоцитов периферической крови с помощью общепринятой методики [3].

Для оценки оксидативного стресса измеряли процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенатах печени и мозга крыс, методом регистрации железоиндуцированной ХЛ [7] на приборе ХЛ-003 (Россия). Интегральными параметрами ХЛ являются светосумма свечения и максимальная интенсивность свечения: светосумма свечения (S) характеризует способность липидов к окислению, максимальная интенсивность свечения (I max) зависит от интенсивности накопления гидроперекисей липидов. Кроме того, интенсивность ПОЛ измеряли по содержанию одного из продуктов перекисного окисления – малонового диальдегида (МДА) как продукта, реагирующего с тиобарбитуровой кислотой (набор реактивов для определения ТБК-активных продуктов «АБК-Агат»).

Уровень психоэмоционального стресса определяли посредством оценки поведенческих реакций лабораторных животных в тесте открытое поле [6].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере в программе «Statistica for Windows (release 10.0)». Рассчитывали среднее значение (M) и стандартную ошибку средней (m). Группы сравнивались при помощи t-критерия Стьюдента для независимых переменных и непараметрического критерия Манна – Уитни.

Результаты исследования

Изменение массы надпочечников является одним из показателей развития стрессорных реакций на фоне ФН. При ФН увеличивалась масса надпочечников, и возрастало общее количество лейкоцитов крови лабораторных животных (табл.1).

Таблица 1

Масса надпочечников и общее количество лейкоцитов крови лабораторных животных на фоне ФН и под влиянием ПП и ТУ

	Масса надпочечников(г)	Количество лейкоцитов (x10 ⁹ /л)
Контроль	0,034±0,007	4,152±1,706
ФН	0,075±0,009*	6,631±1,557*
ФН+I	0,056±0,006	3,297±1,315
ФН+IX	0,053±0,012	4,075±1,209
ФН+X	0,038±0,012	2,76±1,075

Примечание: * – различия, достоверные с контрольной группой животных; (при p < 0,05).

При введении ПП и ТУ масса надпочечников сохранялась на уровне, близком к контролю. Физическая нагрузка приводила к росту количества лейкоцитов. На фоне введения ПП и ТУ количество лейкоцитов крови у лабораторных животных соответствовало таковым значениям интактных животных.

Физическая нагрузка вызывала у лабораторных животных усиление процессов ПОЛ, определяемое методом регистрации железоиндуцированной ХЛ и ТБК-активных продуктов. В гомогенатах печени лабораторных животных, подвергнутых ФН, наблюдалось увеличение светосуммы ХЛ по сравнению с интактными животными. Введение в течение 24 дней анализируемых субстанций препятствовало развитию реакций ПОЛ. Влияние исследуемых соединений на ХЛ гомогенатов печени и мозга и уровень ТБК-активных продуктов в гомогенатах мозга, печени представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние субстанций на показатели хемилюминесценции в гомогенатах мозга и печени (условные единицы), ТБК-активных продуктов в гомогенатах мозга, печени

Группа	ХЛ гомогената печени		ХЛ гомогената мозга		ТБК-активные продукты в печени (мкмоль/л)	ТБК-активные продукты в мозге (мкмоль/л)
	S	I max	S	I max		
Контроль	12,640 ±2,627	6,300 ±1,448	15,360 ±5,560	6,710 ±1,315	0,408 ±0,060	0,346 ±0,023
ФН	15,730 ±3,256*	10,460 ±3,29*	47,170 ±3,741*	19,330 ±0,089*	0,486 ±0,095*	0,554 ±0,141*
ФН +I	9,330 ±0,577	4,560 ±1,145	12,740 ±2,086	4,760 ±0,572	0,372 ±0,041	0,278 ±0,039
ФН +IX	8,130 ±2,558	6,200 ±1,473	30,670 ±1,050*	10,430 ±2,154*	0,350 ±0,041	0,304 ±0,042
ФН +X	24,860	7,630	5,870	5,230	0,312	0,292

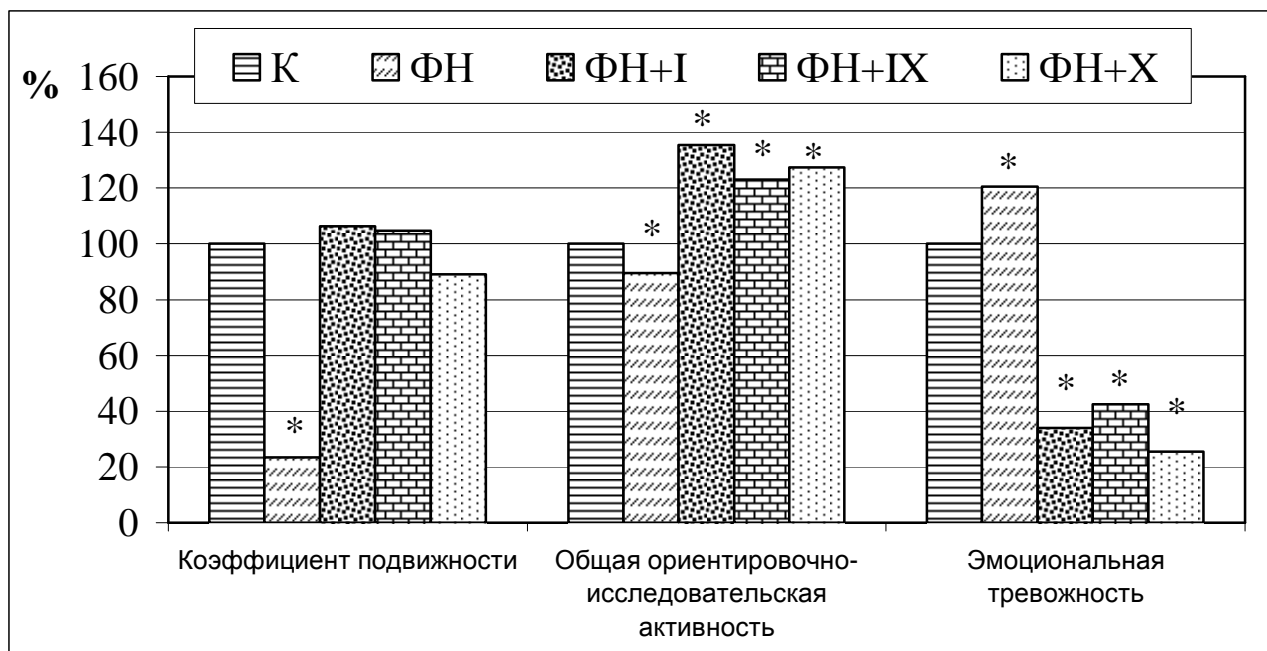
	$\pm 2,975^*$	$\pm 0,379$	$\pm 0,551^*$	$\pm 0,306$	$\pm 0,055$	$\pm 0,061$
--	---------------	-------------	---------------	-------------	-------------	-------------

Примечание: * – различия, достоверные с контрольной группой животных; (при $p < 0,05$).

Как видно из таблицы, введение субстанций животным снижало интенсивность ХЛ. Снижение светосуммы и максимальной светимости хемилюминесценции свидетельствует о том, что ПП обладают протективной способностью относительно образования перекисных липидных радикалов в ткани мозга и печени.

Результаты исследования оксидативного стресса в гомогенатах мозга и печени, полученные методом регистрации хемилюминесценции, в целом подтвердились при оценке содержания ТБК-активных продуктов, характеризующих состояние процессов перекисного окисления липидов. Уровень концентрации ТБК-активных продуктов (МДА) в гомогенатах печени и мозга животных, получавших ФН, увеличивался. Введение же ПП способствовало сохранению этого показателя на уровне контроля. Соединения I, IX и X препятствовали увеличению содержания МДА в тканях мозга и печени у животных.

Исследование психоэмоционального состояния лабораторных животных, получающих физическую нагрузку, выявило нарушение в структуре поведенческих реакций. Снижался коэффициент подвижности и уменьшалась общая ориентировочно-исследовательская активность. При этом росла эмоциональная тревожность. Применение ПП предохраняло животных от торможения поведенческих реакций, вызванных ФН. Под воздействием ПП и ТУ ориентировочно-исследовательская деятельность животных возрастала в сравнении с группой животных, получающих физическую нагрузку (рисунок).



Изменение поведенческих реакций у лабораторных животных при физической нагрузке (ФН) под влиянием производных пириимидина (ПП)

Примечание: * – различия, достоверные с контрольной группой животных; (при $p < 0,05$).

Как видно по рисунку, после введения субстанций коэффициент подвижности сохранял значения контрольной группы, а общая ориентировочно-исследовательская активность возрастала: животные интенсивно перемещались по горизонтальной плоскости поля. Повысилось число заглядываний в норки. Одновременно снижалась эмоциональная тревожность.

Подводя итоги проведенного исследования, можно сделать следующее заключение. ФН вызывает развитие оксидативного стресса, отражающегося в усилении реакций ПОЛ в гомогенатах мозга и печени лабораторных животных. Введение ПП и ТУ снижает интенсивность ХЛ и ТБК реагирующих продуктов (МДА) в гомогенатах печени и мозга, что свидетельствует о замедлении ПОЛ. Модель ФН в эксперименте также вызывает психоэмоциональный стресс, сопровождаемый нарушением поведенческих реакций. Введение исследуемых ПП и ТУ лабораторным животным на фоне ФН сохраняет поведенческую активность.

Таким образом, исследуемые соединения предохраняют животных одновременно как от оксидативного, так и психоэмоционального стресса, обусловленных физической нагрузкой. Выявленные свойства исследуемых ПП и ТУ позволяют рассматривать их в качестве кандидатов в лекарственные средства для коррекции негативных последствий стрессорных воздействий.

Список литературы

1. Величковский Б. Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды // Вестник РАМН. – 2001. – № 6. – С. 45-52.
2. Катаев В. А. [и др.] Синтез и изомерия продуктов взаимодействия 5 (6)-нитро-2-хлорбензимидазола с эпителиохлоргидином // Журнал органической химии. – 2002. – Т. 38, № 10. – С. 1560-1562.
3. Медведев В. В., Волчек Ю. З. Клиническая лабораторная диагностика: справочник для врачей. – СПб.: Гиппократ, 1997. – 200 с.
4. Петрова И. В., Катаев В. А., Мещерякова С. А. и др. Антиоксидантные свойства производных пиримидина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т. 8, № 4. – С. 64-67.
5. Петрова И. В., Катаев В. А., Мещерякова С. А. и др. Биологические свойства новых производных урацила // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т. 8, № 6. – С. 163-165.

6. Рылова М. Л. Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. – М.: Медицина, 1964. – 230 с.
7. Фархутдинов Р. Р., Тевдорадзе С. И. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003 // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: сборник докладов / под ред. проф. Е. Б. Бурлаковой. – М.: Изд-во РУДН, 2005. – С. 147-154.
8. Bailey D. M. [et al.] Regulation of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans // *American journal of physiology*. – 2004. – Vol. 287. – № 4. – P. 1689-99.
9. Bailey D. M., Davies B., Young I. S. [et al.] EPR spectroscopic detection of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans // *J. Appl. Physiol.* – 2003. – Vol. 94, № 5. – P. 1714-8.
10. Burgin R., Weizman R., Gavish M. Repeated swim stress and peripheral benzodiazepines receptors // *Neuropsychobiology*. – 1996. – Vol. 33. – pp. 28-31.