

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО БЕНЗИМИДИЗОЛА, СОДЕРЖАЩЕГО ДИОКСОТИЕТАНОВЫЙ ЦИКЛ, НА ПОСЛЕДСТВИЯ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА У ЖИВОТНЫХ, ВЫЗВАННОГО ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ

*Антон Валерьевич Катаев, Тагир Рафаилович Гизатуллин\**

*Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа*

### Реферат

**Цель.** Изучить последствия психоэмоционального стресса, вызванного физической перегрузкой, и оценить возможности их коррекции с помощью производного бензимидазола, содержащего диоксотиетановый цикл животного происхождения.

**Методы.** Поведенческие реакции изучали на опытных животных на фоне дозированной физической нагрузки (в виде плавательного теста), используемой как модель для создания состояния напряжения, которое сопровождается психоэмоциональным стрессом. В качестве объекта исследований использованы беспородные белые крысы с массой тела 120–180 г. Физическую перегрузку вызывали плаванием животных в течение 28 дней по 30 мин ежедневно. Животные были разбиты на три группы по 10 особей: первая группа – контрольная, вторая группа была подвергнута действию физической нагрузки, третья группа была подвергнута физической нагрузке на фоне приёма исследуемого вещества (50 мг/кг).

**Результаты.** При физической нагрузке у животных выявлены увеличение массы надпочечников и количества лейкоцитов в крови, снижение коэффициента подвижности и общей исследовательской активности, повышение эмоциональной тревожности, что свидетельствует о развитии стресса. Применение производного бензимидазола показало свою эффективность в качестве регулятора хронического стресса. Физическая нагрузка на фоне введения исследуемого вещества не приводила к повышению количества лейкоцитов в крови и увеличению массы надпочечников. При введении исследуемого вещества животным происходило увеличение коэффициента подвижности и общей исследовательской активности в 1,5 раза, а показатель эмоциональной тревожности у животных снизился в 2 раза по сравнению с группой, которая была подвергнута физической нагрузке без применения производного бензимидазола. После физической нагрузки в гомогенатах мозга животных ускорились процессы свободнорадикального окисления. Об этом свидетельствовало увеличение содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, и снижение общей антиоксидантной активности. При введении исследуемого вещества эти показатели увеличивались относительно группы животных, которых подвергали физической нагрузке без применения производного бензимидазола, и были сопоставимы с показателями в группе контроля.

**Вывод.** На фоне физической нагрузки с перенапряжением применение исследуемого соединения предупреждает развитие негативных последствий психоэмоционального стресса.

**Ключевые слова:** бензимидазол, стресс, физическая нагрузка, поведенческие реакции.

### EFFECT OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVE CONTAINING DIOXONIUM ETHANE CYCLE ON THE OUTCOMES OF EMOTIONAL STRESS INDUCED BY PHYSICAL OVERLOAD IN ANIMALS

*A.V. Kataev, T.R. Gizatullin*

*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

**Aim.** To study the outcomes of emotional stress induced by physical overload, and to assess the effects of benzimidazole derivative containing dioxonium ethane cycle of 2-[1-(1,1-dioxyethyl) 3] benzimidazolyl-2-thio] acetic acid potassium salt.

**Methods.** Behavioral responses were studied in experimental animals getting graduated physical exercise (swimming test) which was used as a model for physical and emotional stress. White scrub rats with a body weight of 120–180 g were used as research object. Physical overload was induced by making animals swim 30 minutes daily for 28 days. Animals were distributed into three groups of 10 animals each: the control group, the group of physical activity, and the group of physical activity exposed to the studied substance (50 mg/kg).

**Results.** Animals exposed to physical activity showed an increase in adrenal glands weight white blood cell count and reduced the mobility ratio and the overall research activity, as well as increased emotional anxiety, indicating stress. Benzimidazole derivative showed to be effective controller of chronic stress. Physical activity in animals exposed to study substance did not lead to an increase of white blood cell count and adrenal glands weight. Animals exposed to study substance increased mobility ratio and the overall research activity by 1.5 times, and the rate of emotional anxiety in animals has decreased by 2 times compared to the group that was exposed to physical activity without benzimidazole derivative administration. Free radical oxidation processes were more intense in brain homogenates of animals after physical activity, which was seen as increased levels of reactants interacting with thiobarbituric acid and decreased total antioxidant activity. In animals exposed to study substance, these indicators increased compared to animals exposed physical activity without administration of study substance, and were comparable to controls.

**Conclusion.** The use of the study substance prevents the negative effects of emotional stress and physical overload.

**Keywords:** benzimidazole, stress, exercise, behavioral reactions.

В современных условиях возрастают негативные воздействия среды, вызывающие психоэмоциональный стресс, который сопровождается изменением процессов свободнорадикального окисления, в первую очередь генерации активных форм кислорода и перекисного окисления липидов [5]. Свободнорадикальное окисление — необходимое и жизненно важное звено метаболизма, нарушение которого становится универсальным молекулярным механизмом, причиной и общей закономерностью развития различных по этиологии заболеваний [6]. Для защиты организма от разрушений, вызываемых избытком свободных радикалов, применяют антиоксиданты. Поддержание антиоксидантного статуса организма на оптимальном уровне играет ведущую роль в профилактике различных заболеваний и оздоровлении людей, подвергающихся физическим и психоэмоциональным перегрузкам (спортсменов, военнослужащих и др.) или действию негативных факторов среды (работников вредных производств, жителей экологически неблагоприятных регионов и т.д.), ослабленных и часто болеющих детей, пациентов с хроническими заболеваниями [1].

В связи с этим представляется актуальным поиск новых соединений, предупреждающих последствия психоэмоциональной перегрузки. Определённый интерес представляют гетероциклические соединения, в частности производные бензимидазола, содержащие диоксотетановый цикл калиевая соль 2-[1-(1,1-диокситетанил-3) бензимидазол-2-тио]уксусной кислоты (исследуемое вещество — ИВ). Установлено, что данное ИВ обладает весьма широким спектром различной фармакологической активности: психонейротропной, актопротективной, противоязвенной, антиишемической, бронхолитической, антиаритмической, противоопухолевой. В наших предыдущих исследованиях [2, 3] было показано, что ИВ подавляет образование радикалов активных форм кислорода и процессы перекисного окисления липидов в модельных системах *in vitro*.

Цель исследования — изучить последствия психоэмоционального стресса, вызванного физической перегрузкой, и оценить возможности их коррекции с помощью ИВ.

Опыты проводили на неимбранных крысах с массой тела 120–180 г (по 10 особей в группе), содержавшихся в стандартных условиях вивария (согласно приказу Минздрава от 23 августа 2010 г.

№708н). Физическую перегрузку вызывали плаванием животных в течение 28 дней по 30 мин [4].

Животные были распределены на три группы: первая — контроль, вторая — подвергнутые действию физической нагрузки, третья — подвергнутые действию физической нагрузки на фоне приёма ИВ (50 мг/кг). ИВ вводили внутривенно в виде суспензии в 2% крахмальной слизи в нетоксичной дозе. Выбор дозы обусловлен токсикологическими параметрами ИВ. Острая токсичность (ЛД<sub>50</sub>) при введении белым неимбранным мышам составила 1988 мг/кг.

В качестве индикатора стресса оценивали изменения массы надпочечников и количества лейкоцитов в крови опытных животных. Подсчёт массы надпочечников проводили простым взвешиванием, количество лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева.

Поведенческие реакции изучали с применением метода «открытое поле». Исследовали главную мотивацию поведения животных на неизвестную обстановку. В рамках этой модели учитывали большое количество элементов поведения (паттернов) с привлечением вероятностной оценки переходов из одного паттерна в другой.

Для проведения методики «открытое поле» использовали камеру со стенками высотой 40 см, пол которой расчерчен на четыре квадрата, по углам их высверлены норки диаметром 3 см. Крысу помещали возле боковой стенки «поля», после чего в течение 4 мин (отдельно для каждого животного) фиксировали параметры свободного поведения. В индивидуальном поведении крыс выделялся ряд визуально идентифицируемых элементарных двигательных актов и поз, количество которых в последующем фиксировалось, и проводились расчёты:

- расчёт объёма паттернов (доля данного паттерна среди других поведенческих паттернов с учётом длительности эксперимента);

- расчёт вероятностей перехода из одного состояния во все возможные другие состояния.

Главным критерием служила интенсивность ориентировочно-исследовательской активности животных, дополнительными критериями — коэффициент подвижности и эмоциональная тревожность.

Процессы свободнорадикального окисления исследовали в гомогенатах мозга животных. Ткань мозга взвешивали и гомо-

Таблица 1

**Изменения показателей крови и массы надпочечников в условиях хронического стресса, вызванного физической нагрузкой, и на фоне приёма ИВ**

Объект исследования	Контроль	Физическая нагрузка	Физическая нагрузка + ИВ
Масса надпочечников, мг	0,06±0,004	0,08±0,004*	0,06±0,003
Количество лейкоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	4,08±0,18	5,9±0,32*	4,16±0,27

Примечание: приведены средние значения шести измерений; \*статистически значимые отличия от контроля (p < 0,05); ИВ – производные бензимидазола, содержащие диоксогетановый цикл калиевая соль 2-[1-(1,1-диокситетанил-3)бензимидазол-2-тио]уксусной кислоты.

Таблица 2

**Изменения поведенческих реакций у животных в условиях хронического стресса, вызванного физической нагрузкой, и на фоне приёма ИВ**

Вид исследования	Контроль	Физическая нагрузка	Физическая нагрузка + ИВ
Определение коэффициента подвижности	3,82±0,15	2,74±0,2*	4,08±0,18*
Определение общей исследовательской активности	33,24±1,9	26,22±1,1*	37,52±1,8*
Определение эмоциональной тревожности	13,58±1,2	20,8±1,6*	10,84±0,8*

Примечание: приведены средние значения шести измерений; \*статистически значимые отличия от контроля (p < 0,05); ИВ – производные бензимидазола, содержащие диоксогетановый цикл калиевая соль 2-[1-(1,1-диокситетанил-3)бензимидазол-2-тио]уксусной кислоты.

Таблица 3

**Изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности в гомогенате животных при длительных физических нагрузках**

Вид исследования	Контроль	Физическая нагрузка	Физическая нагрузка + ИВ
ТБК-активные продукты, Д534	0,34±0,01	0,42±0,01*	0,35±0,02
Общая антиоксидантная активность, ммоль/л	3,66±0,2	2,38±0,1*	3,9±0,1

Примечание: приведены средние значения шести измерений; \*статистически значимые отличия от контроля (p < 0,05); ИВ – производные бензимидазола, содержащие диоксогетановый цикл калиевая соль 2-[1-(1,1-диокситетанил-3)бензимидазол-2-тио]уксусной кислоты; ТБК – тиобарбитуровая кислота.

генизировали в фосфатном буфере (1/5 г/мл) [2]. Определяли содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов по содержанию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), с использованием набора реактивов фирмы «Агат». Общую антиоксидантную активность определяли с помощью набора реактивов «Randox». Исследовали процессы свободнорадикального окисления в гомогенате мозга методом регистрации хемиллюминесценции – свечения, возникающего при взаимодействии свободных радикалов.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием пакета программ «Statistica 6.0 StatSoft». Статистическую значимость различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Плавание, как насильственная для крыс процедура, является стрессорным фактором. Длительная физическая перегрузка вызывала у животных хронический стресс,

сопровождаясь увеличением массы надпочечников и количества лейкоцитов в крови. Физическая нагрузка на фоне введения ИВ не приводила к повышению количества лейкоцитов в крови и увеличению массы надпочечников. Показатели количества лейкоцитов и массы надпочечников были сопоставимы с показателями группы контроля. Применение ИВ у животных препятствовало развитию симптомов хронического стресса, вызванных физической нагрузкой (табл. 1).

Результаты исследования поведения животных в неизвестной обстановке приведены в табл. 2.

У животных на фоне действия физической нагрузки происходило снижение таких показателей поведенческих реакций, как коэффициент подвижности и общая исследовательская активность. В то же время показатель эмоциональной тревожности увеличился.

Однако при введении ИВ животным на

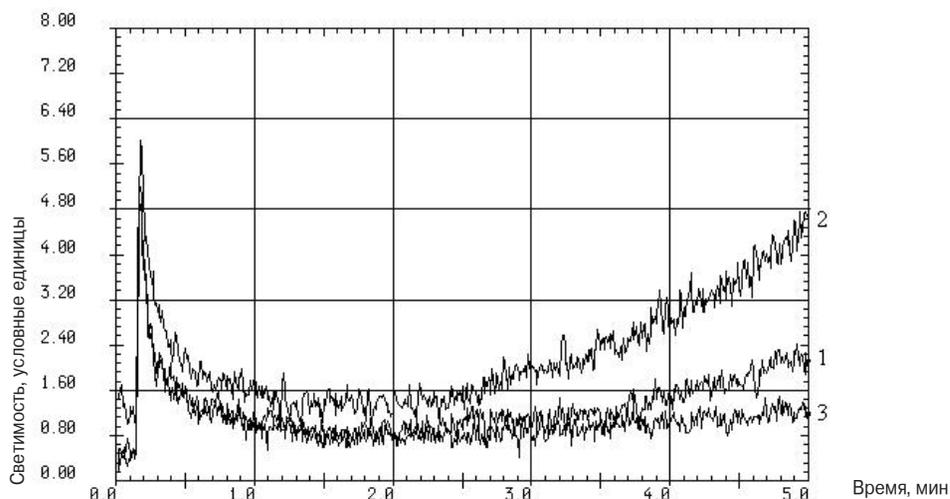


Рис. 1. Запись хемилуминесценции гомогената мозга. 1 — контроль; 2 — после стресса, вызванного хронической физической нагрузкой; 3 — физическая нагрузка на фоне приёма исследуемого вещества.

фоне действия физической нагрузки произошло увеличение коэффициента подвижности и общей исследовательской активности в 1,5 раза, а показатель эмоциональной тревожности у животных снизился в 2 раза по сравнению с группой, которая была подвергнута физической нагрузке без введения ИВ.

В табл. 3 приведено изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности гомогената мозга животных при разных условиях эксперимента.

Как видно из табл. 3, после физической нагрузки в гомогенатах мозга животных ускорялись процессы свободнорадикального окисления. Об этом свидетельствовали увеличение содержания ТБК-активных продуктов и снижение общей антиоксидантной активности. При введении ИВ животным на фоне физической нагрузки эти показатели увеличивались относительно группы животных, которых подвергали физической нагрузке, и были сопоставимы с показателями в группе контроля.

На рис. 1 представлены типичные записи хемилуминесценции гомогенатов мозга крыс группы контроля, после длительной физической нагрузки и после физической нагрузки на фоне приёма ИВ. В них можно выделить спонтанное свечение, быструю вспышку в момент введения инициатора перекисного окисления липидов (солей железа), латентный период, переходящий в медленную вспышку.

Спонтанное свечение характеризует интенсивность окисления в ткани мозга без внешнего вмешательства. Амплитуда быс-

трой вспышки зависит от содержания перекисных продуктов, которые разрушаются при введении инициатора окисления, длительность латентного периода определяется антиоксидантной активностью исследуемого образца, а величина светосуммы хемилуминесценции служит интегральным показателем способности липидов окисляться. Её величина у контрольных животных составляла в среднем  $11,6 \pm 0,5$  у.е., повышалась при длительных физических нагрузках до  $16,9 \pm 0,7$  у.е. и оставалась в пределах контрольных значений при введении ИВ —  $10,6 \pm 0,4$  у.е., что свидетельствовало о купировании развития оксидативного стресса в ткани мозга данной группы животных.

Согласно современным представлениям, интенсивные и длительные физические нагрузки можно рассматривать как вызывающие стрессовую реакцию. Они приводят к существенному изменению генерации активных радикалов кислорода и перекисному окислению липидов. Механизмы этих нарушений при физических перегрузках многообразны и не до конца изучены. Выброс нейтрофилов в кровь и их активация также ведут к увеличению количества активных форм кислорода.

Большое значение в повышении интенсивности свободнорадикального окисления в условиях стресса имеет снижение антиоксидантной активности за счёт увеличения расходования биологических антиоксидантов и уменьшения активности антиоксидантных ферментов.

В данной работе выявлена способность ИВ предупреждать развитие негативных по-

следствий психоэмоционального и оксидативного стресса в ткани мозга при длительных физических перегрузках.

### ВЫВОДЫ

1. Длительная физическая нагрузка у опытных животных приводит к развитию хронического стресса. Об этом свидетельствуют увеличение массы надпочечников, количества лейкоцитов в крови, снижение коэффициента подвижности и общей исследовательской активности, увеличение эмоциональной тревожности. Применение исследуемого вещества на фоне длительной физической нагрузки предупреждает развитие симптомов хронического стресса, нарушение поведенческих реакций у животных.

2. Физические перегрузки ведут к ускорению в ткани мозга животных процессов свободнорадикального окисления. Повышаются интенсивность хемилюминесценции гомогената мозга и содержание продуктов окисления, снижается общая антиоксидантная активность. Введение исследуемого вещества корригирует оксидативный стресс.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Ерин А.Н.* Свободнорадикальные механизмы в церебральных патологиях // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* — 1994. — Т. 117, №10. — С. 343–348. [Erin A.N. Free-radical mechanisms in cerebral diseases. *Vyulleten'*

*eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 1994; 117 (10): 343–348. (In Russ.)]

2. *Катаев А.В., Гизатуллин Т.Р., Фархутдинов Р.Р.* Исследование воздействия производных бензимидазола на процессы свободнорадикального окисления // *Мед. вестн. Башкортостана.* — 2014. — Т. 9, №2. — С. 204–206. [Kataev A.V., Gizatullin T.R., Farkhutdinov R.R. The impact of benzimidazole derivatives on free radical oxidation. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana.* 2014; 9 (2): 204–206. (In Russ.)]

3. *Катаев В.А., Садыков Р.Ф., Халиуллин Ф.А., Сибиряк С.В.* Синтез и иммуномодулирующая активность 1-(тиетанил-3)бензимидазолов // *Химико-фармацевт. ж.* — 1996. — Т. 30, №7. — С. 22–24. [Kataev V.A., Sadykov R.F., Khaliullin F.A., Sibiryak S.V. Synthesis and immunomodulatory effect of 1-(tietanil-3)benzimidazoles. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal.* 1996; 30 (7): 22–24. (In Russ.)]

4. *Рылова М.Л.* Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. — М.: Медицина, 1964. — 230 с. [Rylova M.L. *Metody issledovaniya khronicheskogo deystviya vrednykh faktorov sredy v eksperimente.* (Methods for research of the chronic effects of unfavorable environmental factors in experiment.) Moscow: Meditsina. 1964; 230 p. (In Russ.)]

5. *Фархутдинов Р.Р., Кутлубаев М.А., Ахмадева Л.Р., Муфазалов А.Ф.* Свободнорадикальное окисление в головном мозге и поведенческие реакции крыс при хроническом стрессе // *Здравоохр. Башкортостана.* — 2005. — №7. — С. 106–107. [Farkhutdinov R.R., Kutlubaev M.A., Akhmadeeva L.R., Mufazalov A.F. Free-radical oxidation in brain and behavioral reactions in rats at chronic stress. *Zdravookhraneniye Bashkortostana.* 2005; 7: 106–107. (In Russ.)]

6. *Фархутдинов Р.Р.* Свободнорадикальное окисление в норме и патологии // *Практ. врач.* — 2010. — №2. — С. 54–62. [Farkhutdinov R.R., Free-radical oxidation in health and disease. *Praktikuyushchiy vrach.* 2010; 2: 54–62. (In Russ.)]

**Правила для авторов —**

**на сайте «Казанского медицинского журнала»:  
[www.kazan-medjournal.ru](http://www.kazan-medjournal.ru)**