

ГБОУ ВПО ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Садикова Наталья Владимировна

**КОРРЕКЦИЯ ПРОИЗВОДНЫМИ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ
СТРЕССОРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СЕРДЦА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
член-корреспондент РАН, ЗРВШ РФ,
доктор медицинских наук, профессор
Тюренков Иван Николаевич

Научный консультант:
с.н.с. лаборатории фармакологии
сердечно-сосудистых средств НИИ
фармакологии ВолгГМУ,
доктор биологических наук
Перфилова Валентина Николаевна

Волгоград, 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. СТРЕССОРНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ МИОКАРДА, МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1 Патофизиология стресса.....	11
1.2 Повреждающее действие стресса на сократимость миокарда	19
1.3 NO- и ГАМК-ергические стресс-лимитирующие системы	24
1.4 Стресс и старение.....	31
1.5 Фармакологические свойства глутаминовой кислоты.....	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
ГЛАВА 3. ПОИСК ВЕЩЕСТВ С КАРДИОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ.....	52
3.1 Изучение влияния производных глутаминовой кислоты на функциональные резервы сердца стрессированных животных	52
3.2 Изучение зависимости кардиопротекторного эффекта соединения РГПУ-238 от дозы.....	61
ГЛАВА 4. ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЯ РГПУ-238 В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ СТРЕСС-ЛИМИТИРУЮЩИХ СИСТЕМ	65
4.1 Влияние исследуемого соединения на ино- и хронотропные резервы сердца при блокаде различных NO-синтаз	65
4.2 Изучение действия соединения РГПУ-238 на функциональные резервы сердца стрессированных животных в условиях блокады ГАМК _A -рецепторов...	74

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЯ РГПУ-238 У СТРЕССИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП.....	77
5.1 Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на функциональные резервы сердца крыс-самок в возрасте 6, 12 и 24 месяцев в условиях острого иммобилизационно-болевого стрессирования.....	77
5.2 Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на функциональные резервы сердца 12 и 24 месячных крыс-самцов при хроническом стрессорном воздействии.....	87
ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ	93
6.1 Оценка антиоксидантных и антигипоксических свойств соединения РГПУ- 238 при стрессорном повреждении миокарда.....	93
6.2 Оценка эндотелиопротекторных свойств соединения РГПУ-238 при стрессорном повреждении миокарда	98
6.3 Влияние соединения РГПУ-238 на показатели системы гемостаза	102
у животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию	102
6.4 Мембранопротекторное действие соединения РГПУ-238.....	105
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	108
ВЫВОДЫ	122
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	128

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают оставаться ведущей причиной инвалидизации и смертности взрослого населения (Беленков Ю.Н. и др., 2006; De Paula J.G. et al., 2014). По оценкам всемирной организации здравоохранения, в 2012 году от ССЗ умерло 17,5 миллиона человек, что составило 31% всех случаев смерти в мире¹. Наиболее часто болезни сердца возникают в результате воздействия стресса, который по данным крупномасштабных международных исследований (INTERHEART), был признан третьим по значимости среди 9 независимых факторов риска развития острого коронарного синдрома (Yusuf S. et al., 2004).

Проблема стресса с годами становится все более острой в связи с ростом отрицательного влияния социальных факторов на здоровье человека, что провоцирует рост сердечно-сосудистых заболеваний (коронарная недостаточность, инфаркт миокарда, аритмии, гипертоническая болезнь, атеросклероз) (Templin C. et al., 2015; Кор W.J. et al., 2015; Lampert R., 2015; 2016; Inan B. et al., 2016; Crump C. et al., 2016; Yano Y. et al., 2016).

Известно, что длительное и интенсивное стрессорное воздействие вызывает депрессию сократительной функции, что проявляется снижением скорости сокращения и расслабления миокарда, ударного и минутного объемов, а так же ино- и хронотропных резервов сердца (Меерсон Ф.З. и др., 1988; Пшенникова М.Г., 2000; Перфилова В.Н. и др., 2007; 2009; Prasad I. et al., 2012; Jain M. et al., 2013; Champion S. et al., 2015; Cohen R. et al., 2016; Fontes M.A. et al., 2016).

Степень патогенного воздействия при развитии стресс-реакции во многом определяется состоянием NO- и ГАМК-ергической стресс-лимитирующих систем, способных оказывать ограничивающее влияние при действии стрессорного фактора на центральном и периферических уровнях (Малышев И.Ю. и др., 2000;

¹Сердечно-сосудистые заболевания. Информационный бюллетень ВОЗ. - № 317. - Январь 2015 г.

Манухина Е.Б. и др., 2000; Cordellini S. et al., 1998; Vaiva G. et al., 2004; Gulati K. et al., 2006).

С возрастом в сердечно-сосудистой системе (ССС) происходят морфофункциональные изменения, вызывающие снижение функциональных резервов сердца и развитие сердечной недостаточности. Физиологические изменения ССС, возникающие при старении, приводят к снижению способности миокарда оптимально реагировать на повреждающие стрессорные воздействия (Khan M. et al., 2012; Kwak H.B., 2013; Zhang Y. et al., 2014; Ikeda Y. et al., 2014).

В связи с вышеизложенным является актуальным поиск и создание новых эффективных кардиопротекторных лекарственных препаратов, способных активировать стресс-лимитирующие системы, ограничивать последствия стрессорного воздействия у пациентов разного возраста за счет влияния на его патогенетические звенья.

В качестве таких веществ можно рассматривать глутаминовую кислоту (ГК) и ее производные, так как в многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях показано наличие кардиопротекторных, противоаритмических, противофибрилляторных, антигипоксических свойств, а также способности ограничивать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и повышать активность антиоксидантных ферментов (Удинцев Н.А. и др., 1984; Калинина Е.В. и др., 2003, 2007; Филатова Н.М. и др., 2009; 2012; Блинов Д.С. и др., 2012; Игнатов Ю.Д. и др., 2012; Багметова В.В. и др., 2012; Гогина Е.Д. и др., 2012; Максимова Л.Н. и др., 2013; Крыжановский С.А. и др., 2013).

Степень разработанности проблемы

Повреждение сердца при длительном стрессорном воздействии и поиск эффективных способов его ограничения и предупреждения является в последние десятилетия предметом комплексных физиологических, биохимических, цитологических и фармакологических исследований (Перфилова В.Н. и др., 2007; 2009; Прохоренко И.О. и др., 2011; Крыжановский Г.Н., 2011; Хугаева В.К. и др., 2012; Prasad I. et al., 2012). В качестве потенциальных стресс- и кардиопротекторов рассматриваются производные нейроактивных аминокислот.

Стресс-реакция, вызванная различными факторами, сопряжена с активацией ГАМК-ергической стресс-лимитирующей системы в головном мозге и, в первую очередь, с повышением интенсивности биосинтеза ГАМК в 2-3 раза, ингибиторным влиянием ее на секрецию «гормонов и медиаторов стресса» - кортикотропин-рилизинг-фактора, АКТГ, вазопрессина и катехоламинов (Carrasco G.A. et al., 2003; Verkuyl J.M. et al., 2005; Blacktop J.M. et al., 2016; Goddard A.W., 2016; Partridge J.G. et al., 2016). Известно, что один из метаболитов ГАМК-ергической системы - γ -оксимасляная кислота (ГОМК) - подавляет стресс-реакцию, способствует снижению концентрации кортикостерона и катехоламинов в надпочечниках, плазме крови и миокарде (Меерсон Ф.З., 1984). Вальпроевая кислота — ингибитор ГАМК-трансферазы — ограничивает развитие окислительного стресса в сердце. Фенибут и его производное цитрокард (цитрат фенибута) ингибируют процессы перекисного окисления липидов, повышают функциональные резервы сердца в постстрессорный период (Тюренков И.Н. и др., 1981).

Глутаминовая кислота является предшественником ГАМК, обладает способностью поддерживать при операционном стрессе сократительную функцию миокарда в раннем послеоперационном периоде при операциях на сердце (Шмерельсон М.Б. и др., 1990), снижать степень миокардиальной контрактуры и защищать сердце от реперфузионных повреждений, улучшать коронарное кровообращение (Удинцев Н.А. и др., 1984). У ГК и ее производных выявлены антигипоксические и антиоксидантные свойства (Макарова Л.М. и др., 2013). Вместе с тем, взаимодействие производных глутаминовой кислоты со стресс-лимитирующими системами и их кардиопротекторные эффекты в условиях стресса не изучены.

Цель исследования

Поиск веществ с кардиопротекторной активностью среди новых производных глутаминовой кислоты в условиях стрессорного повреждения миокарда и изучение некоторых аспектов механизма их действия.

Задачи исследования

1. Провести скрининг веществ с кардиопротекторным действием среди производных глутаминовой кислоты.
2. Проанализировать зависимость между химической структурой и специфической активностью исследуемых веществ.
3. Определить зависимость кардиопротекторного эффекта наиболее активного соединения от дозы, острую суточную токсичность и широту терапевтического действия.
4. Исследовать влияние нового производного глутаминовой кислоты на функциональные резервы сердца стрессированных животных в условиях блокады NO- и ГАМК-ергической систем.
5. Оценить влияние наиболее активного соединения на ино- и хронотропную функции сердца у животных разного возраста, подвергшихся острому иммобилизационно-болевному и хроническому стрессированию.
6. Изучить действие исследуемого соединения на вазодилатирующую и антитромботическую функцию эндотелия стрессированных животных.
7. Исследовать влияние на процессы ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов, мембранопротекторные и антигипоксические свойства нового производного глутаминовой кислоты у крыс в условиях стрессорного воздействия.

Научная новизна исследования

Впервые проведен целенаправленный поиск веществ с кардиопротекторным действием среди 9 новых производных глутаминовой кислоты в условиях стрессорного повреждения миокарда, проанализирована зависимость между химической структурой исследуемых веществ и их специфической активностью. Выявлено соединение под лабораторным шифром РГПУ-238, обладающее выраженной способностью ограничивать повреждающее влияние острого и хронического стрессорного воздействия на миокард, о чем свидетельствует его способность повышать функциональные резервы сердца у животных разных возрастных групп и модулировать NO-ергическую систему и ГАМК_A-рецепторы.

Впервые изучены некоторые аспекты механизма действия исследуемого вещества в условиях стресса, показано влияние его на вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия животных, на процессы ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в сердце, мембранопротекторные и антигипоксические свойства.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты выявленных закономерностей между кардиопротекторным действием новых производных глутаминовой кислоты и их химической структурой могут служить основой для направленного синтеза, дальнейшего поиска и разработки высокоактивных и малотоксичных веществ со стресс- и кардиопротекторной активностью. Способность соединения РГПУ-238 ограничивать негативное влияние острого и хронического стресса на миокард у животных разных возрастных групп свидетельствует о возможности и перспективности разработки на его основе лекарственного препарата для предупреждения стрессорных повреждений миокарда.

Результаты проведенного исследования включены в материалы лекций и практических занятий для студентов на кафедрах фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета, Ростовского государственного медицинского университета, Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ВолгГМУ, для интернов и фармацевтических специалистов, проходящих последипломное усовершенствование на кафедре фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ. Методические подходы к поиску, доклиническому фармакологическому изучению веществ с кардиопротекторными свойствами используются в научно-исследовательской работе кафедр фармакологии, фармакологии и биофармации ФУВ, НИИ фармакологии ВолгГМУ, кафедре фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института.

Методология и методы исследования

В проведенном исследовании использовался комплексный подход по изучению кардиопротекторных свойств новых производных глутаминовой

кислоты в условиях стрессорного повреждения миокарда. Оценка влияния соединения РГПУ-238 на функциональные резервы сердца проводилась при блокаде стресс-лимитирующих систем, а также у разных возрастных групп с использованием моделей острого и хронического стрессирования.

Дизайн исследования соответствовал международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997).

В качестве теоретической и методологической основы использовались методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств отечественных и зарубежных ученых по данной проблеме, с применением рекомендованных методов статистической обработки данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Актуален поиск высокоэффективных соединений с кардиопротекторными свойствами в ряду производных глутаминовой кислоты.
2. Соединение РГПУ-238 повышает функциональные резервы стрессированного миокарда животных и в условиях блокады NO-ергической системы и ГАМК_A-рецепторов.
3. При остром и хроническом стрессе соединение РГПУ-238 улучшает ино- и хронотропную функции сердца у крыс различного возраста, более существенно в группе старых животных.
4. Соединение РГПУ-238 нормализует вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия стрессированных животных, ограничивает процессы ПОЛ, повышает активность антиоксидантных ферментов в сердце, оказывает мембранопротекторное и антигипоксическое действие.

Личный вклад

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников литературы по изучаемой проблеме, выполнена экспериментальная часть работы, проведены статистическая обработка и описание результатов исследования. Автор принимал участие в формулировке

задач, выводов и научно-практических рекомендаций. При его участии проведен подбор методов и дизайн исследования, разработаны протоколы экспериментов.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, применением специализированного и высокотехнологичного оборудования, общепринятых методов и критериев статистической обработки данных. Материалы работы докладывались и обсуждались на VI съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» (Казань, 2012), 70-ой открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2012), V Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения-2013» (Санкт-Петербург, 2013), 72-ой открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2014, диплом II степени). По материалам диссертации опубликовано 24 печатные работы, в том числе 9 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и 2 патента на изобретения.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, научно-практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, включающего 297 источников, из них 136 отечественных и 161 зарубежных авторов. Работа проиллюстрирована 9 таблицами и 14 рисунками.

ГЛАВА 1. СТРЕССОРНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ МИОКАРДА, МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

«Ничто так не истощает и не разрушает организм человека, как продолжительное физическое бездействие», — писал древнегреческий философ Аристотель. Созданные цивилизацией и научно-техническим прогрессом гиподинамия (снижение силовых нагрузок) и гипокинезия (ограничение двигательной активности) оказывают отрицательное влияние на системы кровообращения, дыхания, обмен веществ, нервные и гуморальные регуляторные механизмы, опорно-двигательный аппарат и непременно ведут к снижению реактивности организма и стрессоустойчивости. В последнее время к последствиям стресса относят различные психосоматические заболевания — невротические расстройства, заболевания сердечно-сосудистой системы, нарушения мозгового кровообращения, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, отдельные злокачественные опухоли и другие (Miller D. et al., 2002; Robles T. et al., 2005; Filaretova L. et al., 2013).

1.1 Патофизиология стресса

Основоположителем учения о стрессе является канадский ученый Ганс Селье, уделявший особое внимание биологическим и физиологическим аспектам проблемы стресса (Селье Г., 1979).

В функциональном и морфологическом отношении стресс выражается общим адаптационным синдромом, имеющим определенные и хорошо известные стадии: тревоги и мобилизации, повышенной резистентности и истощения (Селье Г., 1979). Способность организма сопротивляться внешним повреждающим факторам изменяется в ходе этих стадий, как показано на графике (Рисунок 1).

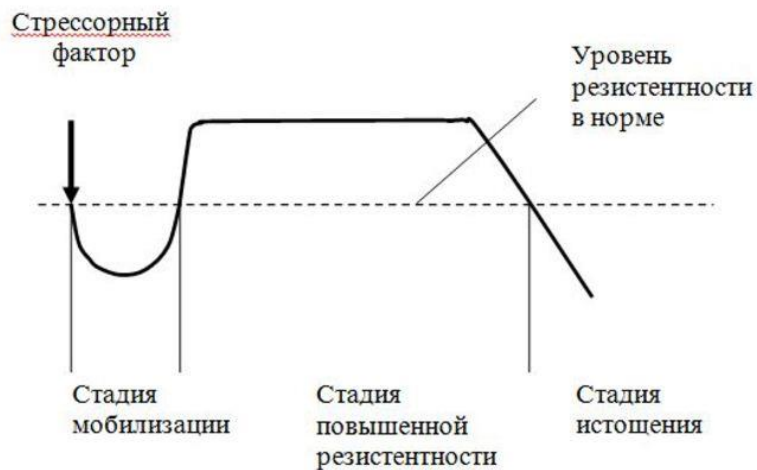


Рисунок 1. Динамика уровня резистентности организма в зависимости от стадии стресса (Апчел В.Я. и др., 1999).

Стадия тревоги возникает в момент действия стрессорного фактора и может продолжаться в течение 48 ч после начала его воздействия. Ее выраженность зависит от силы и продолжительности действия раздражителя. Эта стадия, характеризующаяся временным снижением сопротивляемости, переходит затем в стадию резистентности, т. е. на качественно более высокий уровень (Селье Г., 1979).

В случае прекращения воздействия стрессорного агента вызванные им изменения в организме (гормональные, структурно-метаболические сдвиги) постепенно нормализуются, выраженных патологических последствий не наступает (Меерсон Ф.З. и др., 1988).

Когда же патогенный раздражитель имеет чрезмерную силу или действует длительно, многократно, то адаптационные возможности организма могут оказаться несостоятельными, что приведет к потере резистентности и развитию стадии истощения (там же). Для этой стадии характерно снижение активности симпато-адреналовой системы, угнетение всех защитных процессов в организме, абсолютная недостаточность глюкокортикоидов, обусловленная истощением пучковой зоны коры надпочечников. В этой стадии в организме преобладают

минералокортикоиды, которые во многих отношениях являются антагонистами глюкокортикоидов (Ronald de Kloet E., 2003) (Рисунок 2).

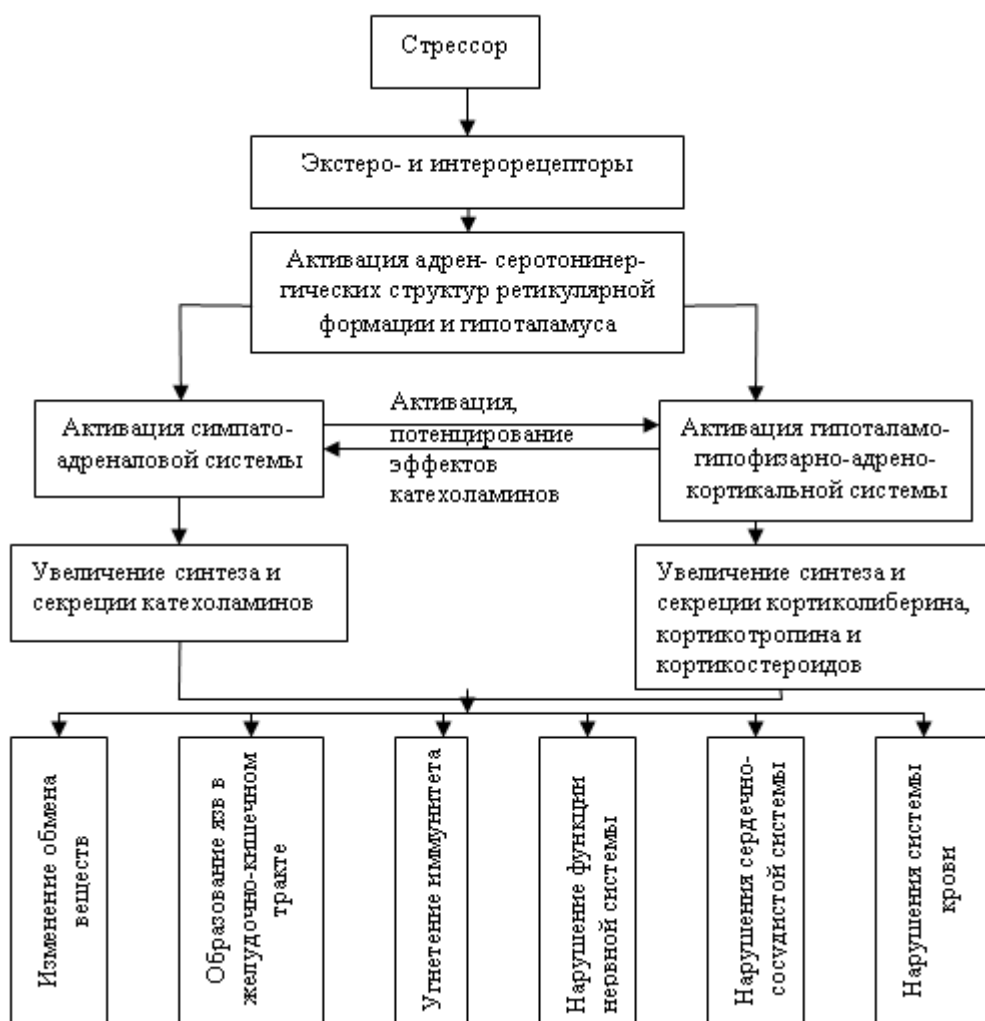


Рисунок 2. Общий патогенез стресса.

Реализация стресс-реакции осуществляется посредством центрального и периферического звеньев стресс-системы (Пшенникова М.Г., 2000; 2001; Bhatnagar S. et al., 2004). Центральным звеном является гипоталамус, который получив информацию о появлении стрессора, запускает работу всей стресс-системы, координирует эндокринные, метаболические и поведенческие реакции организма. Активация паравентрикулярного ядра гипоталамуса приводит к освобождению кортикотропин-рилизинг-гормона, стимулирующего секрецию адренотропного гормона (АКТГ) (Пшенникова М.Г., 2000; Bailey T.W. et al., 2003). Последний в свою очередь, вызывает повышенное выделение

глюкокортикоидов из пучковой зоны коры надпочечников: у человека - кортизола (гидрокортизона), а у крыс – кортикостерона (Рисунок 3).

Активация заднего гипоталамуса приводит к повышению тонуса симпатико-адреналовой системы, усиливается освобождение норадреналина из симпатических нервных окончаний, а из мозгового вещества надпочечников выделяется в кровь адреналин, что приводит к значительному повышению уровня катехоламинов (КХ) в крови (Апчел В.Я. и др., 1999).

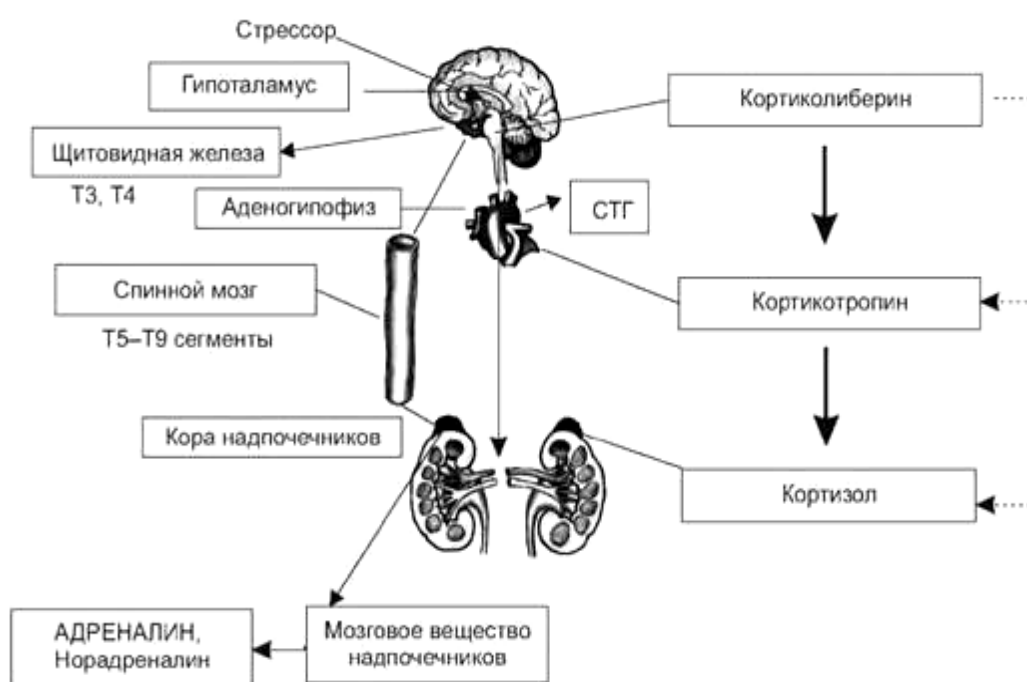


Рисунок 3. Механизм формирования стресса (Апчел В.Я. и др., 1999).

В развитии стресс-реакции принимают участие и другие гормоны и биологически активные вещества. Установлено, что активация переднего гипоталамуса под влиянием стрессорных факторов увеличивает экспрессию вазопрессина и его секрецию в гипофизе, активируя гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось. Вазопрессин рассматривается как фактор, потенцирующий эффект кортиколиберина и способствующий высвобождению АКТГ, а также повышающий активность симпатической нервной системы, что усиливает ее действие при стрессе (Тигранян Р.А. и др., 1988).

При активации гипоталамуса и симпатической нервной системы усиливается секреция β -эндорфинов из промежуточной доли гипофиза и метэнкефалинов из надпочечников (Пшенникова М.Г., 1987). Согласно литературным данным опиоидные пептиды принимают участие в регуляции секреции гипоталамических гормонов и гормонов аденогипофиза, являются модуляторами активности коры надпочечников, угнетают процессы выделения катехоламинов (Curtis A.L. et al., 2001).

Установлено, что серотонин играет ключевую роль в развитии стресс-реакции (Carrasco G.A. et al., 2003; Mahar I. et al., 2014). Накоплено много данных, свидетельствующих о том, что истощение серотонина повышает тревожность у людей, а препараты, повышающие уровень серотонина, оказывают успокаивающее действие, особенно у пациентов, страдающих генерализованным тревожным расстройством и паническими атаками (Kirby et al., 2000; Kuhn M. et al., 2014; Yee A. et al., 2015).

Роль тиреоидной эндокринной системы в формировании стресса остается спорной, поскольку получены противоречивые данные о продукции тиреотропного гормона (ТТГ) гипофиза и функциональной активности щитовидной железы (Надольник Л.И., 2010). Ряд авторов выявили, что в условиях стресса усиливается секреция ТТГ, что предполагает повышение функции щитовидной железы (Киселева Н.М. и др., 2010; Helmreich D.L. et al., 2011). Другие, наоборот, утверждают, что функция щитовидной железы ингибируется в связи с подавлением секреции ТТГ под воздействием высокой концентрации АКТГ (Лейкок Дж.Ф. и др., 2000). Такое расхождение в полученных данных позволяет предположить, что при определенных обстоятельствах неспецифические эффекты стрессора могут модифицироваться его специфическими свойствами. Ряд исследователей, изучая влияние острого и хронического стресса на общую устойчивость организма у крыс, выявили, что подавление функции щитовидной железы приводит к резкому снижению резистентности организма, тогда как введение физиологических доз тиреоидных гормонов способствует ее повышению (Городецкая И.В. и др., 2011).

Широко известным фактом является то, что глюкагон играет важную роль в развитии стресса, выработка которого повышается под влиянием катехоламинов. Однако избыточная продукция катехоламинов тормозит секрецию другого гормона поджелудочной железы – инсулина (Paneni F. et al., 2015).

Согласно последним данным установлено, что в развитии стресс-реакции принимают участие ряд биологически активных веществ, потенцирующих или опосредующих эффекты основных реализующих звеньев стресс-системы. К таким веществам относят ангиотензин II, нейропептид Y, субстанцию P и некоторые интерлейкины. (Апчел В.Я. и др., 1999). Известно, что нейропептид Y (NPY) опосредует свои физиологические эффекты через четыре рецептора: Y (1), Y (2), Y (4) и Y (5). Наиболее распространенными рецепторами семейства NPY являются Y (1) и Y (2) - рецепторы, которые в большей степени присутствуют в коре головного мозга, гиппокампе и миндалине. Эти области мозга связаны прежде всего с расстройствами настроения, реакцией на стресс и памятью. В связи с этим был проведен ряд исследований у грызунов, которые показали, что Y (1) и Y (2) рецепторы участвуют в развитии стресс-реакции. Также по результатам недавних исследований авторы предполагают, что Y (4) и Y (5) рецепторы вовлечены в процессы, связанные с эмоциями, у грызунов (Morales-Medina J.C. et al., 2010). Исследователи университета Мичиган обнаружили, что люди, чьи гены вырабатывают низкие уровни нейропептида Y, более чувствительны к отрицательным стимулам, связанным с эмоциями, поступающими в головной мозг и, следовательно, менее устойчивы к стрессу и подвержены высокому риску развития сильного депрессивного расстройства (Mickey B.J. et al., 2011).

Многочисленные данные показывают, что провоспалительный цитокин - интерлейкин-1 ($IL-1\beta$) играет важную роль в нейроэндокринных и поведенческих реакциях стресса (Miller D. et al., 2002; Robles T. et al., 2005; Gadek-Michalska A. et al., 2013). В частности, установлено, что продукция $IL-1\beta$ является важным звеном в активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы и секреции глюкокортикоидов (Goshen I. et al., 2009). Многим исследователям удалось выявить высокий уровень $IL-1\beta$ и $IL-6$ после воздействия стрессорного фактора

(Brydon L. et al., 2005; Smith W.S. et al., 2007; Gądek-Michalska A. et al., 2015). Некоторые авторы предполагают, что стресс-индуцированная активация IL-1 является одной из причин, приводящих к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, поскольку известно, что оба интерлейкина играют ключевую роль в развитии атеросклероза (Brydon L. et al., 2005).

Большинство исследований указывает на анксиогенную роль вещества субстанции Р при развитии стресс-реакции, которая является нейропептидом из семейства такикининов и находится в структурах головного мозга, отвечающих за физиологию боли (Jessop D.S. et al., 2000; Wang L. et al., 2015). Три основных нейрокининовых рецептора опосредуют действие такикининов: NK1, NK2 и NK3-рецепторы, которые имеют большее сродство к субстанции Р, нейрокинину А и нейрокинину В (Okano et al., 2001; Carrasco G.A. et al., 2003). Активация рецепторов NK1 увеличивает частоту сердечных сокращений, артериальное давление и активность симпатической нервной системы (Claire H.F. et al., 2014). Наиболее изученным в настоящее время при стрессорном повреждении является NK1-рецептор, тем не менее, роль NK2 и NK3-рецепторов не исключается (Delgado-Morales R. et al., 2012). Установлено, что каскад активации нейрокининовых рецепторов при развитии стресс-реакции включает в себя синтез G белков, фосфолипазы С и выход внутриклеточного кальция, а также открытие кальциевых каналов в плазматической мембране (Bradesi S. et al., 2009; Chen P. et al., 2012).

С действием высоких концентраций катехоламинов связывают также чрезмерную интенсификацию процессов перекисного окисления липидов (Meerson F.Z., 1983). Под влиянием продуктов ПОЛ – гидроперекисей липидов – происходят образование свободных радикалов, лабильзация лизосом, освобождение протеолитических ферментов и образование высокотоксичных продуктов – альдегидов, кетонов, спиртов. Накопление токсичных продуктов ПОЛ вызывает повреждение мембраносвязанных ферментов, нарушение мембранного транспорта, что в конечном итоге приводит к гибели клеток

(Мальцев А.Н. и др., 2010; Pal R. et al., 2011; Pertsov S.S. et al., 2011; Menabde K.O. et al., 2011).

Еще одним из неблагоприятных факторов стресса является длительная гиперлипидемия. Активация липолиза ведет к образованию свободных жирных кислот - донаторов энергии для интенсивно функционирующих органов. Их использование сопряжено с повышением потребления кислорода. При его дефиците утилизация свободных жирных кислот нарушается, происходит их накопление, вызывающее ряд патологических процессов: жировое перерождение печени, повышение свертываемости крови и тромбоз сосудов, развитие атеросклероза, гипертонической болезни (Devaki M. et al., 2013; Inoue N., 2014). Кроме того, стресс-реакция характеризуется активацией фосфолипаз, что сопровождается перераспределением фосфолипидов, образованием лизофосфолипидов, обладающих детергентными свойствами. В результате этого меняются структурная организация, фосфолипидный и жирно-кислотный состав липидного слоя мембран, что приводит к инактивации мембраносвязанных рецепторов клеток, ионных каналов и насосов (Апчел В.Я. и др., 1999; Devaki M. et al., 2013).

Так же известно, что при чрезмерно сильной или затянувшейся стресс-реакции избыточная продукция норадреналина вызывает увеличение поступления ионов Ca^{2+} в клетки, что в сочетании с избытком свободных жирных кислот приводит к набуханию митохондрий, к разобщению окислительного фосфорилирования и дефициту АТФ. Все эти процессы в совокупности оказывают токсический эффект на клетку и приводят к ее гибели (Wu J.J. et al., 2009; Givvimani S. et al., 2015).

Таким образом, стресс-реакция при определенных условиях может превратиться из звена адаптации организма к различным факторам в звено патогенеза различных заболеваний. В настоящее время показана роль стресса как главного этиологического фактора ишемической болезни сердца, гипертонической болезни, атеросклероза. Стресс, особенно хронический, способствует также развитию иммунодефицитных состояний, аутоиммунных

заболеваний, неврозов, импотенции, бесплодия, онкологических заболеваний и др. (Robles T. et al., 2005; Filaretova L. et al., 2013; Kato H. et al., 2015; Zelena D., 2015; Luisi S. et al., 2015; Colucci R. et al., 2015).

1.2 Повреждающее действие стресса на сократимость миокарда

Впервые, Г.Селье в 1979 г. обнаружил транзиторные гистологические изменения в миокарде крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу.

Американский исследователь Bernard Lown, продолжая исследования Г.Селье, доказал, что при стрессе происходят значительные изменения электрической стабильности сердца, снижается порог желудочковой фибрилляции и может развиваться внезапная остановка сердца (Lown B. et al., 1980). Ряд исследователей подтвердили негативное воздействие стресса на миокард и сердечно-сосудистую систему в целом (Меерсон Ф.З., 1984; Marilyn S.C. et al., 1980; Viskin S. et al., 1990).

Исследования на животных и клинические наблюдения показали, что сигнал о внешнем стрессоре воспринимается соответствующими рецепторами и по таламо-кортикальной системе передается в таламус и далее в нейроны основной коры больших полушарий, отвечающие за вход в кору. Там сигнал поступает во фронтальную кору, из которой начинается кортико-стволовой путь, соединяющий ее с таламусом, гипоталамусом и ядрами ствола мозга, непосредственно связанными с регуляцией сердца. Основным звеном этого пути является гипоталамус, который «собирает» информацию от вышележащих отделов головного мозга, а также с периферии, в том числе от сердца. Из гипоталамуса информация при участии стволовых ядер — «синего пятна», двойного ядра и др. — поступает в нейроны ядер продолговатого и спинного мозга, осуществляющих симпатическую и парасимпатическую иннервацию сердца. При этом именно преобладание симпатического выхода на сердце создает аритмогенную ситуацию. Холодовая блокада подкорковой зоны и амигдалы вызывает предупреждение возникновения аритмий при эмоциональном стрессе, а

также фибрилляции сердца и гибель животных при острой ишемии сердца (Мороз Б.Б., 2001).

Меерсон Ф.З. множество трудов посвятил изучению проблемы стресса, патофизиологии сердца и механизму антистрессорных реакций организма. Патогенез стрессорного повреждения миокарда согласно Ф.З. Меерсону складывается из: высоких концентраций катехоламинов, активации перекисного окисления липидов, лабильзации лизосом, повреждения продуктами ПОЛ и протеолитическими ферментами мембран сарколеммы и нарушения транспорта кальция в миокардиальных клетках, что приводит к развитию кальциевой контрактуры и гибели клеток (Меерсон Ф.З. и др., 1988).

При возникновении стрессорной ситуации возбуждение высших вегетативных центров приводит к многократному увеличению действующей на сердце концентрации катехоламинов и активации аденилатциклазы, вследствие чего происходит нарушение работы ионных каналов клеток сердца. Это приводит к чрезмерному поступлению ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты, мобилизации и уменьшению резерва гликогена, сдвигу внутриклеточного метаболизма кардиомиоцитов в сторону преобладания процессов распада белков и нуклеиновых кислот над их ресинтезом, активации ПОЛ и реализации липидной триады (Меерсон Ф.З. и др., 1993). Последняя, в свою очередь, приводит к повреждению лизосомальных мембран и, как следствие, к освобождению протеолитических ферментов (Chen F. et al., 2009). При действии лизосомальных ферментов и нарушениях в системе гликолиза развиваются повреждения мембран сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, нарушается работа кальциевого насоса, что приводит к нарастанию избытка Ca^{2+} в саркоплазме. Последний, может активировать совокупность процессов, составляющих липидную триаду, и таким образом усугубляет повреждение миокарда. Во-вторых, кальциевая перегрузка в кардиомиоцитах вызывает развитие комплекса изменений (кальциевая триада), слагающегося из контрактуры миофибрилл, нарушения функции митохондрий, перегруженных кальцием и активации миофибриллярных протеаз и митохондриальных фосфолипаз, что значительно

усугубляет повреждение (Lee Y.P. et al., 2008). В результате возникают необратимая контрактура и некробиоз отдельных групп кардиомиоцитов и выраженные нарушения сокращения и расслабления сердца (Рисунок 4).

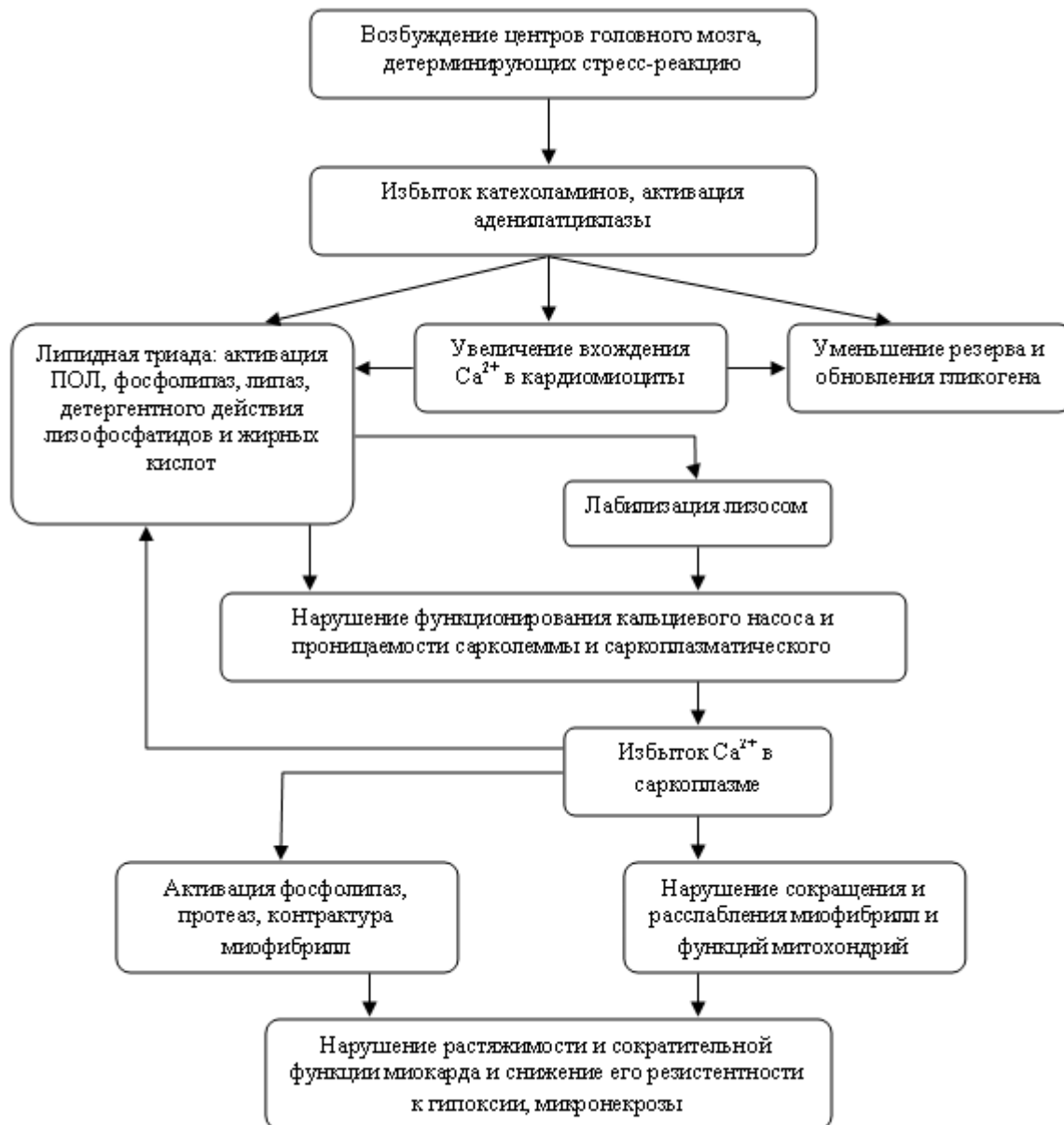


Рисунок 4. Патогенетическая цепь стрессорного повреждения миокарда (Пшенникова М.Г., 2000).

В настоящее время широко исследовано влияние эмоционального стресса на сердечный ритм и коронарный кровоток (Перфилова В.Н., 2009; Khanna D. et al., 2006; Bacon S.L. et al., 2006; Sawai A. et al., 2007). Результаты последних клинических испытаний убедительно показывают, что эмоциональный стресс

вызывает обратимую дисфункцию миокарда у пациентов (Derian W. et al., 2007; Lee Y.P. et al., 2008; Chen F. et al., 2009; Prasad I. et al., 2012).

На изолированных сердцах и кардиомиоцитах крыс и кроликов было показано, что перегрузка кальцием может также приводить к спонтанным осцилляциям Ca^{2+} , что в некоторых случаях вызывает задержанные постдеполяризации, экстрасистолы, и приводят к фибрилляции желудочков и аритмии (Кацнельсон Л.Б. и др., 2007).

Данные многих исследований свидетельствуют, что представленная патогенетическая цепь реализуется не только в кардиомиоцитах, но также в миоцитах артерий и артериол и приводит к развитию стойкого спазма сосудов, который играет определенную роль в типичных для клиники стрессорных нарушениях коронарного, мозгового и периферического кровообращения (Хугаева В.К. и др., 2012). Некоторые экспериментальные исследования стресса показали, что однократное воздействие различных по характеру и продолжительности чрезвычайных раздражителей вызывает однотипные нарушения в микрососудах у разных видов животных (Прохоренко И.О. и др., 2011). Изменения возникают в трех участках микрососудистого русла: внутри микрососудов; в стенке микрососудов; во внесосудистом пространстве (Glazachev O.S. et al., 2012).

Внутрисосудистые нарушения микроциркуляции заключаются в замедлении кровотока вплоть до полного стаза, агрегации эритроцитов в виде «монетных столбиков», плазматизации сосудов (микрососуды, заполненные плазмой без эритроцитов и лейкоцитов, что часто бывает связано со спазмом сосудов, из которых притекает кровь в данный плазматический сосуд) (Крыжановский Г.Н., 2011; Прохоренко И.О. и др., 2011; Glazachev O.S. et al., 2012; Jain M. et al., 2013).

На уровне стенки микрососудов возникает увеличение сосудистой проницаемости, вызванное экзоцитозом и дегрануляцией тучных клеток, расположенных в периваскулярной ткани вдоль микрососудов. Во внесосудистом пространстве увеличивается численность тучных клеток наряду с разрушением их

мембраны. Первоначальная реакция тучных клеток на чрезвычайное воздействие состоит в увеличении секреции гистамина путем экзоцитоза. Далее происходит дегрануляция тучных клеток с выбросом в ткань огромного числа (более 35) биологически активных веществ, участвующих в регуляции сосудистого тонуса, проницаемости стенки микрососудов, реологических свойств крови и др. Наряду с этим, возрастает высвобождение катехоламинов из адренергических нервных окончаний, оплетающих и иннервирующих микрососуды. Увеличивается число артериоло-венулярных анастомозов, что рассматривается как адаптивная реакция микроциркуляторного русла на повреждение (Хугаева В. К. и др., 2012; Cuisset T. et al., 2011).

Время нормализации кровотока в микрососудах в постстрессорном периоде зависит от характера и продолжительности действия стрессора и коррелирует с состоянием тучных клеток. Корреляция прямая: после разрушения мембраны биологически активные вещества тучных клеток воздействуют на стенку микрососудов, проникают в просвет микрососудов и влияют на реологические свойства крови. Чем больше тучных клеток дегранулировано, тем больше нарушений микроциркуляции (Хугаева В.К. и др., 2012).

В экспериментальных исследованиях показано, что хронический стресс вызывает, с одной стороны, повреждение эндотелия сосудов, запуская процессы атерогенеза, с другой – активацию симпато-адреналовой системы, что приводит к повышенной вазоконстрикции и активации тромбоцитов (Yusuf S. et al., 2004).

Согласно литературным данным, при тяжелом и длительном стрессорном воздействии наблюдается депрессия сократительной функции сердца, проявляющаяся снижением скорости сокращения и расслабления миокарда, ударного и минутного объемов и уменьшением функциональных резервов сердца (Меерсон Ф.З. и др., 1988; Пшенникова М.Г., 2000; Перфилова В.Н. и др., 2007). Падение сократительной активности сердца приводит к развитию сердечной недостаточности (Перфилова В.Н., 2009).

Имеются данные о том, что непрерывная активация p38 MAP-киназы играет решающую патофизиологическую роль в развитии стресс индуцированной дисфункции миокарда (Chen F. et al., 2009; Prasad I. et al., 2012).

Некоторые исследователи, изучая влияние длительного иммобилизационного стресса на электрическую стабильность желудочка у крыс, обнаружили, что вызванные иммобилизацией изменения имеют тесную связь со степенью свободных радикалов в ткани миокарда (Bian J.S. et al., 1997).

1.3 NO- и ГАМК-ергические стресс-лимитирующие системы

Активность и реактивность стресс-системы регулируются двумя основными механизмами: саморегуляции и внешней регуляции. Механизм внешней регуляции осуществляется стресс-лимитирующими системами, способными ограничивать чрезмерную стресс-реакцию на центральном и периферическом уровнях регуляции (Меерсон Ф.З. и др., 1993; Малышев И.Ю. и др., 1998; Пшенникова М.Г., 2000).

К основным центральным стресс-лимитирующим системам относят ГАМК-ергическую, представляющую собой группу нейронов, продуцирующих гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК), обладающую тормозным действием на нейроны головного и спинного мозга (Vaiva G. et al., 2004). В частности установлено, что ГАМК-нейроны находятся в тесной взаимосвязи с нейронами, которые вырабатывают кортикотропин-рилизинг-гормон (КРГ), гормон аргинин-вазопрессин (АВ) и норадреналин (НА) (Шабанов П.Д. и др., 2011; 2012). В ответ на развитие стресс-реакции выделяющиеся НА, КРГ и АВ стимулируют ГАМК-нейроны, которые в свою очередь секретируют ГАМК и тем самым приводят к ограничению активности стресс-системы в целом (Liu Y.W. et al., 2013).

ГАМК способна оказывать тормозное действие не только на центральном уровне, но и на периферии (Тюренков И.Н. и др., 2001; Перфилова В.Н. и др., 2005). Поскольку рецепторы для ГАМК локализованы на аксонах симпатических нейронов, иннервирующих органы и ткани, а также в самих органах, это

обеспечивает ограничение высвобождения катехоламинов и их влияния (Пшенникова М.Г., 2000). Важно отметить, что повторные стрессорные воздействия вызывают не только активацию стресс-лимитирующих систем, но и приводят к повышению мощности (эффективности) этих систем (Мороз Б.Б., 2001) (Рисунок 5).

Многочисленные данные экспериментальных и клинических исследований показывают, что ГАМК-ергические вещества способны снижать тонус мозговых сосудов и улучшать кровоснабжение головного мозга (Гаевый М.Д. и др., 2000; Акопян В.П., 2003; Мирзоян Р.С., 2003; Тюренков И.Н. и др., 2009); участвовать в процессах ауторегуляции мозгового кровотока, оказывать протективное действие на миокард (Акопян В.П., 2003; Мирзоян Р.С., 2005; Snyder S.H. et al., 2000; Smith W.S., 2004); улучшать реологические свойства крови (Гречко О.Ю., 2000; Тюренков И.Н. и др., 2007); подавлять глутаматно-кальциевый каскад (Лунышина Е.В. и др., 2002; Островская Р.У., 2003; Мирзоян Р.С., 2005; Hasbani M.J. et al., 2001); предупреждать разрушительное действие продуктов ПОЛ и повышать активность антиоксидантных систем (Тюренков И.Н. и др., 2000; Smith W.S., 2004); способствовать нормализации качественного и количественного состава фосфолипидов и оказывать протективное влияние на мембранные структуры нервной ткани (Мирзоян Р.С., 2003; Тюренков И.Н. и др., 2012).

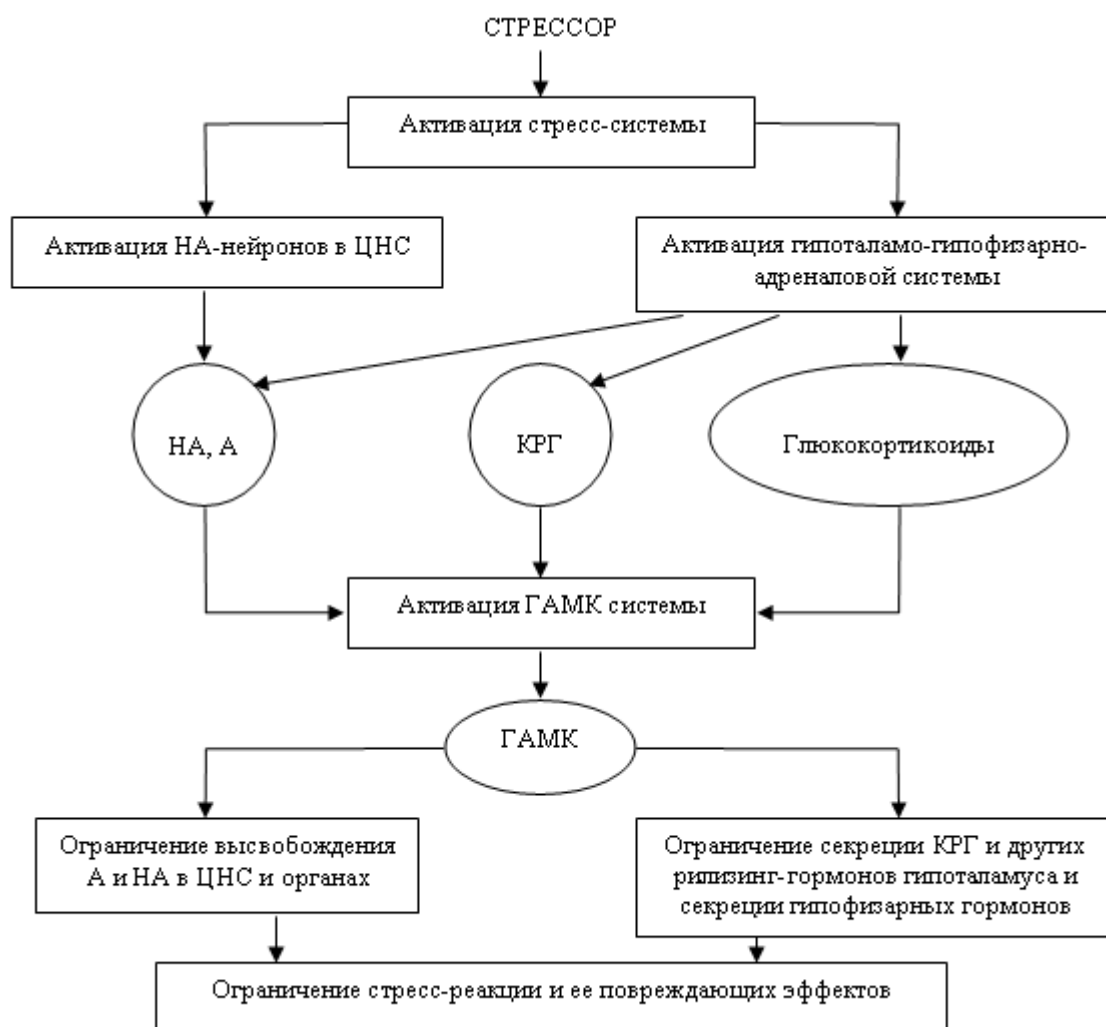


Рисунок 5. Ограничение стресс-реакции при активации ГАМК-системы (Пшенникова М. Г., 2000).

В настоящее время к стресс-лимитирующим системам относят систему оксида азота (NO), являющуюся универсальным медиатором и регулятором физиологических функций организма (Крыжановский Г.Н., 2002). Роль NO в стресс-реакции определяется его свойствами, а также тем, что при стрессе происходит резкое изменение его продукции в разных органах и тканях (Малышев И.Ю. и др., 1998; Манухина Е.Б. и др., 2002). Установлено, что NO-система отвечает основным критериям стресс-лимитирующей системы: 1) активируется под действием стресса; 2) ограничивает выброс и (или) продукцию стресс-гормонов; 3) ограничивает стрессорные повреждения организма; 4) при экзогенном введении увеличивает, а ингибиторы синтеза NO снижают

устойчивость организма к стрессу, а также адаптивные возможности организма; 5) активируется в процессе адаптации к повторным стрессорным воздействиям (Манухина Е.Б. и др., 2000) (Рисунок 6).

В ряде исследований было выявлено ингибирующее влияние оксида азота на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему за счет подавления выработки вазопрессина, что тем самым ограничивает развитие стресс-реакции (Крыжановский Г.Н., 2002; Мацко М.А., 2004; Plotnikoff N.P. et al., 2006).

Установлено, что симпатoadреналовое звено стресс-системы опосредовано NO-ергической иннервацией, так как в небольших концентрациях оксид азота угнетает высвобождение катехоламинов из надпочечников и симпатических нервных окончаний, приводя к ограничению стресс-реакции (Herbert J. et al., 2006).

Симпатoadреналовая активность вызывает стимуляцию еще одной важной оси - ренин-ангиотензиновой. При проведении ряда исследований было обнаружено, что система оксида азота принимает участие в регуляции секреции ангиотензина II, ограничивая тем самым функцию ренин-ангиотензиновой системы, а также способствует поддержанию водно-электролитного баланса в организме (Мацко М.А., 2004; Kamal E. et al., 2001).

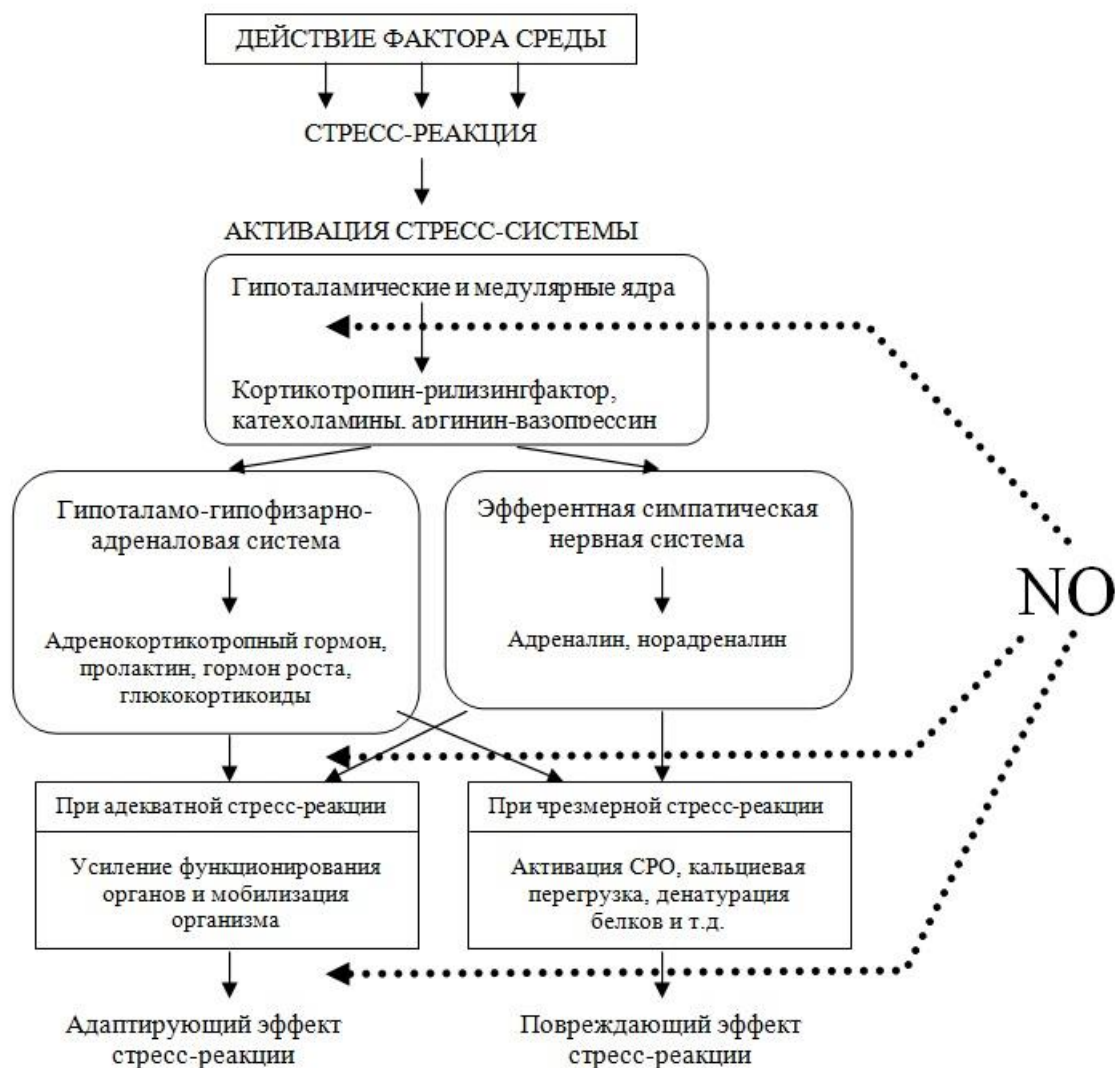


Рисунок 6. Ингибирующее влияние NO в развитии стресс-реакции (Малышев И.Ю. и др., 1998).

Установлено, что продукция оксида азота в миокарде осуществляется коронарным эндотелием, эндокардом и кардиомиоцитами (Muller-Strahl G. et al., 2000). Кардиотропные эффекты NO широки. В настоящее время выявлено, что оксид азота оказывает положительный инотропный эффект, участвует в регуляции тонуса коронарных сосудов, ускоряет релаксацию, укорачивает период сокращения миокарда, улучшает его растяжимость в диастоле (Парахонский А.П., 2010). Экспериментальные данные показывают, что нарушение продукции эндотелиальными клетками оксида азота является одним из факторов патогенеза

ишемических и стрессорных повреждений миокарда, приводящих к дисфункции сосудистого эндотелия (Марков Х.М., 2005).

Экспериментальные данные показывают, что моделирование L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота вызывает развитие комплекса морфофункциональных изменений сосудистой стенки и кардиомиоцитов. Также показано преобладание нарушения эндотелийзависимого расслабления сосудов, сопровождавшегося уменьшением количества стабильных метаболитов оксида азота (Ершов И.Н., 2009).

Снижение уровня NO в миокарде вызывает существенное нарушение его кардиотропных эффектов. При проведении ряда исследований, некоторым авторам удалось выявить эффекты NO на изолированные кардиомиоциты (Muller-Strahl G. et al., 2000). Было показано, что низкие концентрации NO, которые имеют место в нормальных физиологических условиях, оказывают положительное инотропное действие, в то время, как высокие вызывают негативное инотропное влияние (Парахонский А.П., 2010).

Таким образом, в зависимости от концентрации NO, места продукции и функционального состояния организма оксид азота может проявлять кардиопротекторные либо кардиодепрессивные эффекты (Волошин Л.В. и др., 2006; Сомова Л.М. и др., 2006; Парахонский А.П., 2010; Muller-Strahl G. et al., 2000; Bolli R., 2001).

В кардиомиоцитах оксид азота синтезируется превращением L-аргинина в L-цитруллин при участии 3-х NO-синтаз: конститутивных –нейрональной, эндотелиальной (nNOS и eNOS) и индуцибельной (iNOS) (Buchwalow I.B. et al., 2001; Krenek P. et al., 2009).

Активность конститутивных NO-синтаз зависит от внутриклеточной концентрации ионов кальция и, таким образом, повышается при увеличении их уровня в клетке (Takeda M. et al., 2001). Конститутивные NO-синтазы участвуют в важных физиологических процессах, происходящих в сердце, за счет выработки базального и стимулируемого уровня оксида азота, который оказывает

положительный инотропный эффект, способствует укорочению периода сокращения и расслабления миокарда (Парахонский А.П., 2010).

Нейрональная NO-синтаза локализована в саркоплазматическом ретикулуме, участвует в циклическом перемещении кальция и в осуществлении сопряжения возбуждения с сокращением. Имеются данные, что снижение концентрации pNOS приводит к нарушению NO/редокс-баланса, оказывая отрицательное влияние на многочисленные сигнальные процессы в кардиомиоцитах (Парахонский А.П., 2010; Khan S.A. et al., 2004). Кроме этого, установлено, что нейрональная NO-синтаза способна ограничивать активность ксантиноксиредуктазы, которая является главным источником супероксиданиона (Khan S.A. et al., 2004).

Эндотелиальная NOS синтезируется сосудистыми эндотелиальными клетками, кардиомиоцитами и др (Atochin D.N. et al., 2010). В кровеносных сосудах eNOS продуцирует NO, действуя как вазодилататор, тем самым регулируя поток крови и давление (Schmidt A. et al., 2008). При проведении исследований было выявлено, что у мутантных eNOS-нокаутных мышей артериальное давление на 30% выше, чем у животных дикого типа (Penninger J., 1998). В кардиомиоцитах экспрессия eNOS составляет 20% от общего содержания NOS в сердце. Установлено, что eNOS влияет на поток Ca_{2+} в кардиомиоцитах и на сократимость сердца (Woodman O.L. et al., 2000; Андреева Л.А. и др., 2013).

Индукцибельная NOS экспрессируется при различных патологических процессах в кардиомиоцитах и лейкоцитах. Активность iNOS не зависит от уровня кальция/кальмодулина (Сосунов А.А., 2000). Данная изоформа NO-синтаз продуцирует значительно большее количество оксида азота, чем конститутивные синтазы. Экспериментальные данные показывают, что длительное стрессорное воздействие приводит к уменьшению экспрессии eNOS и усилению экспрессии iNOS. В результате этого повышенная концентрация NO оказывает на клетки токсический эффект, связанный как с прямым действием на железосодержащие ферменты, так и с образованием пероксинитрита (ONOO-), что приводит к

повреждению клеток сердца (Сосунов А.А., 2000). В связи с этим, индуцибельная изоформа NO-синтаз считается патологической.

Таким образом, дисфункция сосудистого эндотелия, вызванная дефицитом оксида азота, играет существенную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Это дает основание предполагать, что поддержание соответствующими лекарственными средствами NO/редокс-баланса должно иметь важное терапевтическое значение при лечении последствий стресса, самыми важными из которых являются нарушения сердечно-сосудистой системы. А также, в связи с вышесказанным, является перспективным поиск веществ, способных активировать ГАМК-систему и тем самым оказывать ограничивающее влияние на развитие стресс-реакции и ее повреждающих эффектов.

1.4 Стресс и старение

За последние несколько столетий средняя продолжительность жизни выросла более чем вдвое, что является результатом глубоких экономических, технологических и социальных изменений, в т.ч. усовершенствования и разработки новых лекарственных средств, вакцин, проведения сложных операций на сердце и т.п. Широкое распространение сердечно-сосудистых заболеваний среди возрастной патологии (Фролькис В.В. и др., 1994; Коркушко О.В. и др., 2012) объясняется тем, что при старении способность оптимально реагировать на стрессогенные воздействия постепенно теряется, а чувствительность сердца к действию стрессорных факторов повышается (Lakatta E.G. et al., 2001; Snyder-Mackler N. et al., 2014).

В одном из исследований показано, что с возрастом как у мужчин, так и у женщин, отмечается закономерное снижение значений показателей, характеризующих максимальную производительность системы гемодинамики. Установлено, что при старении причиной снижения максимальной производительности системы транспорта кислорода являются морфофункциональные изменения сердечно-сосудистой системы,

энергетического обмена и нейро-гуморальной регуляции работы сердца (Коркушко О.В. и др., 2012).

Известно, что важными факторами риска развития ССЗ являются возрастные изменения сосудов (Стражеско И.Д. и др., 2013), приводящие к развитию атеросклероза, артериальной гипертензии и другим патологическим процессам. С возрастом усиление фиброза и микрокальцификации элементов проводящей системы вызывает увеличение ригидности сосудов, повышение их общего периферического сопротивления, создающего дополнительную нагрузку на миокард (Преображенский Д.В. и др., 2005; Лішневська В.Ю. и др., 2008). Снижение эластических свойств, растяжимости и повышение ригидности стенки крупных артериальных сосудов является основной причиной возрастного повышения АД, в первую очередь систолического (Lakatta E.G. et al., 2003).

С возрастом снижается интенсивность тканевого дыхания, изменяется сопряжение окисления и фосфорилирования, снижается активность митохондриальной креатинфосфокиназы, количество аденозинтрифосфата (АТФ) и креатинфосфата, активируется гликолиз (Chin-Hao W. et al., 2013; Kong Y. et al., 2014). При старении изменяется минеральный обмен, в частности увеличивается содержание внутриклеточного натрия и кальция, уменьшается содержание калия, магния, что может приводить к уменьшению амплитуды потенциала действия мышечного волокна (Фролькис В.В. и др., 1994).

С возрастом отмечается развитие очаговой атрофии мышечных волокон с явлениями белково-липоидной дистрофии, накоплением амилоида и липофусцина в кардиомиоцитах, снижением объема саркоплазматического ретикулума (Гуревич М.А., 2008). В миокарде при старении отмечается развитие миокардиального фиброза, увеличение содержания коллагена в сочетании с изменением его структуры, что проявляется в увеличении поперечных сшивок. Такие изменения коллагеновой ткани приводят к повышению пассивной жесткости сердца (Лішневська В.Ю. и др., 2010). Содержание коллагена также увеличивается вокруг сосудов и в интерстициальном пространстве (Lin J. et al., 2008). Помимо этого, в межклеточном матриксе увеличивается аккумуляция

липидов и снижается содержание гликогена (Lin J. et al., 2008). Очаговый фиброз и кальцификация клапанов, развивающиеся при старении, способствуют гемодинамическим нарушениям (Chen Y.T. et al., 1999).

В ряде исследований выявлено изменение соотношения содержания изоформ миозина при старении в сторону преобладания медленных изоформ, что тесно коррелирует с возрастным снижением максимальной скорости изотонического сокращения (Besse S. et al., 1993).

Установлено, что с возрастом снижается реактивность барорецепторов, сокращается количество β -адренорецепторов, однако их чувствительность к токсическому влиянию катехоламинов повышается, что обуславливает высокий риск развития стресс-ишемии и опасных для жизни нарушений ритма (Преображенский Д.В. и др., 2005; Лішневська В.Ю. и др., 2008).

Хроно- и инотропные характеристики являются важным показателем функционального состояния сердечной мышцы и отражают эффективность сопряжения в миокарде возбуждения с сокращением. Многочисленные исследования показывают снижение сократительной способности миокарда при старении (Фролькис В.В. и др., 1994; Lakatta E.G. et al., 2003), что связано с нарушениями в электромеханическом сопряжении, вызванном изменением внутриклеточного обмена Ca^{2+} и активностью саркоплазматического ретикулула кардиомиоцита (Lakatta E.G. et al., 2003).

Литературные данные показывают, что с возрастом наряду с изменением сократимости снижается скорость расслабления миокарда (Zile M. et al., 2002). Авторы связывают данный эффект со снижением активности натрий-кальциевого обмена, поскольку расслабление волокон миокарда зависит от скорости удаления ионов кальция из саркоплазмы и аккумуляции их в саркоплазматическом ретикулуме (Lakatta E.G. et al., 2003). Замедление процесса расслабления миокарда обуславливает ухудшение диастолической функции левого желудочка у пожилых людей (Nguyen C.T. et al., 2001; Zile M. et al., 2002).

Во многих экспериментальных работах выявлено возрастное снижение максимальной ЧСС в ответ на физическую нагрузку (Schmidlin O. et al., 1992;

Schwartz J.B., 1997; Cao X.J. et al., 2009). Однако механизм этого явления остается не совсем ясным. Ряд авторов связывают его с уменьшением лабильности синусового узла и функции автоматизма с возрастом (Opthof T., 2000). Другие - с ослаблением симпатических экстракардиальных влияний, снижением хронотропного ответа на катехоламины в старости (Коркушко О.В. и др., 1991; Lakatta E.G. et al., 2003). Также на урежение ЧСС с возрастом может влиять общее понижение тонуса вегетативных влияний на сердечный ритм (Коркушко О.В. и др., 2012).

Основными пусковыми механизмами патологических процессов, связанных со старением, считаются окислительный стресс (ОС) и хроническое воспаление, ключевую роль в развитии которых играет гиперактивация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) (Калинченко С.Ю. и др., 2014; Lorenza E. et al., 2012; Merksamer I.P. et al., 2013; Poljsak B. et al., 2013). Экспериментальные данные свидетельствуют, что с возрастом концентрация ангиотензина II в ткани миокарда у грызунов увеличивается (Dai D.F. et al., 2009; Benigni A. et al., 2009; Stein M. et al., 2010). Вероятно, это связано с возрастанием уровня тканевого ангиотензинпревращающего фермента (Lakatta E.G. et al., 2003). Ангиотензин II вызывает гипертрофию кардиомиоцитов, стимулирует пролиферацию фибробластов и синтез белков экстрацеллюлярного матрикса (Rosenkranz S., 2004).

В одном из исследований авторами была изучена взаимосвязь функционального состояния эндотелия, эритроцитов, тромбоцитов с состоянием показателей свободнорадикального окисления у практически здоровых людей разного возраста. Было показано, что в старшей возрастной группе имеет место активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) при снижении активности антиоксидантной защиты, о чем свидетельствовало достоверное, по сравнению с группой молодых, увеличение содержания в плазме крови малонового диальдегида, низкий уровень СОД и отсутствие адекватного прироста каталазы и глутатиона в ответ на усиление процессов пероксидации. Также были выявлены нарушение сосудодвигательной функции эндотелия, увеличение

агрегационной активности эритроцитов и тромбоцитов, увеличение вязкости крови при различных скоростях сдвига. Результаты проведенного авторами корреляционного анализа позволили им предположить о взаимосвязи нарушения функционального состояния показателей гемоваскулярного гомеостаза с некомпенсированной активацией СРО (Лишневская В.Ю., 2004; 2010). Увеличение образования свободных радикалов в сердце при старении играет важную роль в патогенезе возрастзависимого фиброза сердца (Беликова М.В. и др., 2014). Они оказывают как прямое воздействие на сердечные фибробласты, так и опосредованное, через модуляцию сигналов различных цитокинов (Yan L.J., 2014). Свободные радикалы стимулируют влияние цитокинов и ангиотензина II на фибробласты. Они могут индуцировать выработку воспалительных и фиброгенных медиаторов, играющих роль в развитии возрастзависимого фиброза (Shaw P.X. et al., 2014). Наибольшему риску повреждения свободными радикалами подвергаются митохондриальная ДНК, липиды и протеины митохондрий (Cui H. et al., 2012).

1.5 Фармакологические свойства глутаминовой кислоты

Глутаминовая кислота – основной возбуждающий нейромедиатор центральной нервной системы, участвует в регуляции высших интегративных функций мозга, условно-рефлекторной деятельности, эмоций, болевой чувствительности, мышечных сокращений и др. (Петров В.И. и др., 2002).

Согласно литературным данным, ЦНС находится порядка $1 \cdot 10^6$ глутаматергических нейронов. Тела нейронов лежат в коре головного мозга, обонятельной луковице, гиппокампе, чёрной субстанции, мозжечке. В спинном мозге — в первичных афферентах дорзальных корешков (Shigeri Y. et al., 2004).

Глутамат, взаимодействуя с рецепторами, увеличивает проницаемость мембраны для ионов натрия, вызывает деполяризацию и возбуждающий эффект. Существуют рецепторы глутамата, связанные с ионными каналами: NMDA, AMPA, каинатные рецепторы (Antonius M., 2008). В химических синапсах

глутамат запасается в пресинаптических пузырьках (везикулах). Нервный импульс запускает высвобождение глутамата из пресинаптического нейрона. На постсинаптическом нейроне глутамат связывается с постсинаптическими NMDA-рецепторами и активирует их (Gros L. et al., 2007). Благодаря участию последних в синаптической пластичности, глутамат вовлечен в такие когнитивные функции, как обучение и память (McEntee W.J. et al., 1993).

При повреждении мозга или заболеваниях глутамат накапливается снаружи клетки, что приводит к поступлению большого количества ионов кальция в клетку через каналы NMDA-рецепторов, что в свою очередь вызывает повреждение и гибель клетки (Hynd M. et al., 2004).

На основе глутаматергических веществ созданы препараты с ноотропным (мемантин), анальгетическим (кетамин), противосудорожным (ламотриджин) действием и др. (Петров В.И. и др., 2002; Тюренков И.Н. и др., 2011). В настоящее время много исследований направлено на изучение фармакологических свойств производных глутаминовой кислоты (Тюренков И.Н. и др., 2010; Багметова В.В. и др., 2013; Вислобоков А.И. и др., 2013; Макарова Л.М. и др., 2014).

Обнаружено, что глутаминовая кислота и ее производные проявляют различную активность в зависимости от их пространственного строения (Берестовицкая В.М. и др., 2004).

В литературе достаточно широко изучается физиологическое действие метил-, фенил- и п-хлорфенилглутаминовых кислот (Мандельштам Ю.Е. и др., 1991; Ikonomidou H., 1998).

Установлено, что производное глутаминовой кислоты гидрохлорид β -фенилглутаминовой кислоты обладает психотропным действием, проявляет выраженную анксиолитическую и антидепрессивную активность (Чернышева Ю.В. и др., 2012; Багметова В.В. и др., 2013; Tyurenkov I.N. et al., 2013), является малотоксичным и не вызывает развития толерантности и синдрома отмены (Бугаева Л.И. и др., 2012).

В эксперименте и клинике установлено, что глутамат способствует сохранению сократительных свойств миокарда на достаточно высоком уровне в

раннем послеоперационном периоде при кардиохирургических операциях (Шмерельсон М.Б. и др., 1990), снижает степень миокардиальной контрактуры и защищает сердце от реперфузионных повреждений. Обнаружено, что в условиях окклюзии передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии глутамат повышает коллатеральный коронарный кровоток и увеличивает ретроградное давление (Сапожков А.В., 1984), а также обладает антигипоксическими и антиоксидантными свойствами (Удинцев Н.А. и др., 1984). Известно, что глутаминовая кислота активно потребляется мышцами сердца, оказывая лечебное или профилактическое воздействие при происходящих в нем дистрофических процессах (Pietersen H.G. et al., 1998; Venturini A. et al., 2009). Данная аминокислота может рассматриваться как потенциальный энергетический субстрат, являясь предшественником α -кетоглутарата-интермедиата цикла трикарбоновых кислот. Кроме того, установлено, что в организме глутамат превращается в ГАМК–медиатор стресс-лимитирующей системы, способной ограничивать развитие стресс-реакции и ее повреждающих эффектов (Меерсон Ф.З. и др., 1989; Пшенникова М.Г., 2000).

Экспериментальные данные показывают, что N-ацетил-L-глутаминовая кислота обладает кардиопротекторным и противоаритмическим действием при ишемическом повреждении сердца животных (Филатова Н.М. и др., 2009; 2012; Блинов Д.С. и др., 2012; Гогина Е.Д. и др., 2012). Данное соединение ограничивает активацию процессов перекисного окисления липидов в очаге ишемического повреждения сердца у крыс и снижает концентрацию адреналина (Якушкин С.Н. и др., 2009; Филатова Н.М. и др., 2010; Блинова Е.В. и др., 2011). Авторами была установлена противоишемическая активность исследуемого соединения, проявляющаяся в ограничении размеров зоны некроза при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс. Было показано, что введение раствора N-ацетил-L-глутаминовой кислоты сопровождается снижением летальности и увеличением продолжительности жизни мышей при катехоламиновой интоксикации (Блинов Д.С. и др., 2012).

Имеются данные о том, что замещение анионного фрагмента в молекуле диалкиламинофенилацетамида гидрохлорида на остаток глутаминовой кислоты приводит к повышению антиаритмических свойств в условиях неишемического генеза (Блинов Д.С. и др., 2003). Выраженное противоаритмическое и противофибрилляторное действие было обнаружено у соединения амид N-сукцинил-L-глутамил-L-лизин, содержащее в своем составе глутаминовую кислоту. В исследованиях была выявлена способность данного вещества снижать реактивность β -адренорецепторов миокарда и предотвращать внезапную коронарную смерть (Крыжановский С.А. и др., 2013).

Некоторые авторы на изоволюмических сердцах крыс изучали эффект глутаминовой кислоты на функции сердечной мышцы и источники формирования анаэробной АТФ в миокарде, подверженном гипоксии. В результате был выявлен положительный эффект глутаминовой кислоты, который авторы связывают с активацией формирования анаэробной АТФ в митохондриях (Pisarenko O.I. et al., 1985).

Wise S. с соавторами (1992) при изучении влияния глутаминовой кислоты на реперфузионное повреждение миокарда на изолированных сердцах крыс обнаружили уменьшение времени фибрилляции желудочков и набухания кардиомиоцитов, улучшение восстановления сократительной способности миокарда во время реперфузии.

Шмерельсон М.Б. с соавторами (1990) установили, что введение глутаминовой кислоты в дозе 20 мг/кг при протезировании искусственных клапанов в условиях использования аппарата искусственного кровообращения способствует увеличению сократительной функции миокарда в доишемическом периоде, в период ишемии - сохранению высокого содержания АТФ и креатинфосфата в миокарде, благоприятному восстановлению сердечного ритма в постишемическом периоде. В послеоперационном периоде отмечено снижение частоты острой сердечной недостаточности и развития нарушения ритма, восстановление синусового ритма при исходной мерцательной аритмии.

В доклинических исследованиях композиции Элтацин, содержащей в своем составе три заменимых аминокислоты: глицин, глутаминовую кислоту и цистин, были выявлены кардиопротективные, антиоксидантные и цитопротекторные свойства (Заславская Р.М. и др., 1999; Калинина Е.В. и др., 2003, 2007). Максимова Л.Н. с соавт. (2013) изучали влияние препарата Элтацин на динамику клинического статуса, функционального класса сердечной недостаточности, а также сократительную способность миокарда у больных хронической сердечной недостаточностью. В результате исследования было выявлено повышение сократительной способности миокарда в группе пациентов, принимавших Элтацин. Было отмечено нормализующее влияние препарата на диастолическую дисфункцию, а также значимое уменьшение количества эпизодов депрессии и элевации сегмента ST, сокращение количества суправентрикулярных экстрасистол. Через 21 день от начала приема препарата было отмечено уменьшение количества активных форм кислорода и значимое повышение показателей антиоксидантного статуса, что свидетельствует об активации антиоксидантной защиты организма.

При изучении защитных свойств глутамата и аспартата на модели ишемической реперфузии миокарда экспериментальные данные показали, что добавление аминокислот до и во время поперечного зажима аорты значительно снижает ишемическое повреждение (Tominaga R. et al., 1985).

В совокупности, все перечисленное дает основание предполагать наличие кардиопротекторных свойств у производных глутаминовой кислоты. Рассмотренные примеры указывают на то, что поиск и создание новых лекарственных препаратов среди производных глутаминовой кислоты является перспективным направлением исследований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

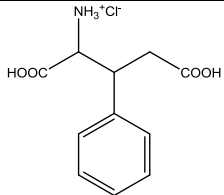
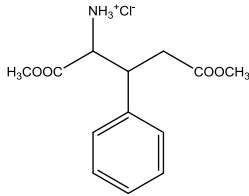
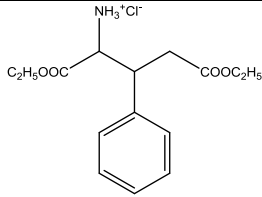
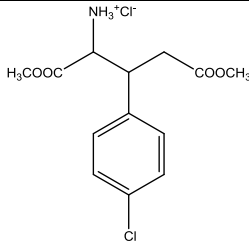
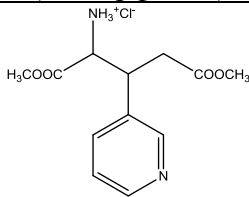
Исследование выполнено на 433 нелинейных крысах и 68 белых мышах.

Животные были получены из питомника «Столбовая» РАМН, Московская обл. и ФГПУ «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Все животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением всех правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 1000.4-96), а также приказа МЗ РФ №267 от 19.06.2003г. «Об утверждении правил лабораторной практики», в соответствии с рекомендациями ВОЗ по экспериментальной работе с использованием животных (Zutphen L.F. et al., 1993). Проведение экспериментов осуществлялось в соответствии с требованиями Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук и международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). Исследование было одобрено региональным независимым этическим комитетом ГУ Волгоградского медицинского научного центра (протокол № 12-2011).

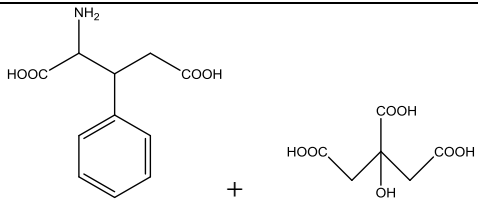
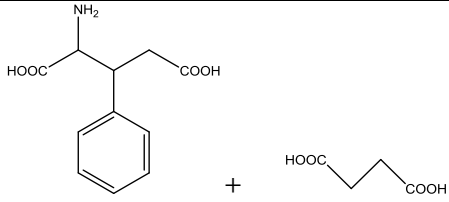
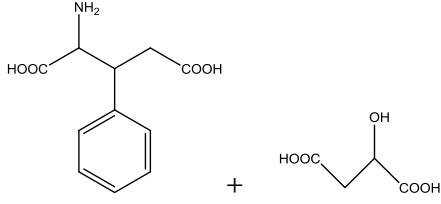
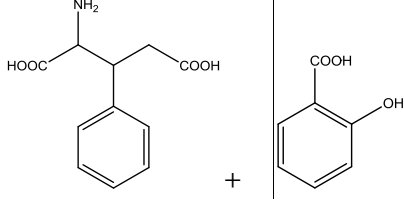
В работе изучено 9 новых соединений - производных глутаминовой кислоты, синтезированных на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.И.Герцена (г. Санкт-Петербург, Россия)². Были исследованы производные глутаминовой кислоты и их композиции с органическими кислотами (Таблица 1).

² Выражаем искреннюю благодарность зав. кафедрой органической химии РГПУ им.А.И..Герцена, д.х.н., проф. Берестовицкой В.М., к.х.н., доц. Васильевой О.С. и всем сотрудникам кафедры за предоставленные для исследования вещества

Таблица 1. Химическая структура, молекулярная масса и доза исследуемых веществ.

№ п/п	Шифр соединения	Формулы и названия химических веществ	Молекулярная масса	Доза, мг/кг
1	РГПУ-135	 Гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты	258,5	26,0
2	РГПУ-238	 Диметиловый эфир гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты	287,0	28,7
3	РГПУ-239	 Диэтиловый эфир гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты	315,5	31,5
4	РГПУ-240	 Диметиловый эфир гидрохлорида 3-(4-хлорфенил)-глутаминовой кислоты	322,0	32,2
5	РГПУ-241	 Диметиловый эфир гидрохлорида 3-(пиридил-3)-глутаминовой кислоты	288,5	28,8

Продолжение таблицы 1.

№ п/п	Шифр соединения	Формулы и названия химических веществ	Молекулярная масса	Доза, мг/кг
6	РГПУ-222	 Композиция 3-фенилглутаминовой и лимонной кислот 1:1	415,0	41,5
7	РГПУ-223	 Композиция 3-фенилглутаминовой и янтарной кислот 1:1	341,0	34,1
8	РГПУ-233	 Композиция 3-фенилглутаминовой и яблочной кислот 1:1	369,0	36,9
9	РГПУ-234	 Композиция 3-фенилглутаминовой и салициловой кислот 1:1	361,0	36,1

Для скрининга веществ с кардиопротекторным действием все изучаемые соединения вводились внутривенно (в/в) в дозах 1/10 от молекулярной массы за 10 минут до и через 10 минут после стрессирования. В качестве препарата сравнения использовали фенибут 25 мг/кг, т.е. в наиболее эффективной дозе согласно проведенным ранее исследованиям (Перфилова В.Н. и др., 2006;

Самотруева М.А. и др., 2008; Молодавкин Г.М. и др., 2009) (синтезирован на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.И.Герцена, г. Санкт-Петербург, Россия).

Определение LD_{50} соединения РГПУ-238 проводилось на мышах-самцах ($m=27\pm3,0$ г) в широком диапазоне доз: 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 1750 мг/кг, 2000 мг/кг. Для каждой из испытываемых доз использовали 10 мышей. Соединение РГПУ-238 вводилось однократно внутрибрюшинно. Контроль за состоянием животных проводили визуально (по состоянию покровов, активности и т.д.). LD_{50} рассчитывали по методу Литчфилда и Уилкоксона в изложении М.Л.Беленького (Беленький М.Л., 1963). Терапевтический индекс (ТИ) рассчитывали по формуле LD_{50}/ED_{50} . Класс токсичности определяли по Н.Ф. Измерову (1977).

Для блокады NO-синтаз использовался неселективный N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME, Sigma, США) в дозе 10 мг/кг (в/б/р). Активность нейрональной NO-синтазы ингибировалась селективным блокатором - 7-нитроиндазол (Sigma, США) - 50 мг/кг (в/б/р), индуцибельной – аминугуанидином (Sigma, США) - 50 мг/кг (в/б/р). В качестве блокатора ГАМК_A-рецепторов применялся бикикулин (Sigma, США) в дозе 2 мг/кг (в/б/р). Блокаторы вводились за 10 минут до и через 10 минут после стрессирования.

Для оценки эндотелиальной дисфункции использовали ацетилхолин - 0,01 мг/кг (Acros organics, США), нитро-L-аргинин - 10 мг/кг (Acros organics, США), нитроглицерин - 0,007 мг/кг (МТХ, Москва).

Моделирование острого стрессорного воздействия.

Исследование выполнено на 243 крысах-самках, находящихся в стадии диэструса, и 78 крысах-самцах.

В экспериментах использовали иммобилизационно-болевою методику стрессирования крыс, заключающуюся в подвешивании животных за холку зажимом Кохера на 24 часа (Ковалев Г.В. и др., 1983). Исследуемые соединения и препарат сравнения вводили внутрибрюшинно за 10 мин до и через 10 минут после стрессирования.

Скрининг исследуемых веществ проводился на 78 крысах-самках 4 месячного возраста массой $234 \pm 4,4$ г. Были сформированы следующие группы животных: 1) интактная, $n=6$; 2) контрольная стресс+физ. р-р, $n=8$; 3) стресс+РГПУ-135, $n=8$; 4) стресс+РГПУ-222, $n=6$; 5) стресс+РГПУ-223, $n=6$; 6) стресс+РГПУ-233, $n=6$; 7) стресс+РГПУ-234, $n=6$; 8) стресс+РГПУ-238, $n=8$; 9) стресс+РГПУ-239, $n=6$; 10) стресс+РГПУ-240, $n=6$; 11) стресс+РГПУ-241, $n=6$; 12) стресс+фенибут, $n=6$.

Изучение зависимости доза-эффект проводилось на 30 крысах-самках в возрасте 4 месяца, массой $241 \pm 11,3$ г. Животные были поделены на группы: 1) интактная, $n=6$; 2) стресс+физ.р-р, $n=6$; 3) стресс+РГПУ-238 в дозе 14,5 мг/кг, $n=6$; 4) стресс+РГПУ-238 - 28,7 мг/кг, $n=6$; 5) стресс+РГПУ-238 - 57,4 мг/кг, $n=6$.

Исследование влияния соединения РГПУ-238 на функциональные резервы сердца в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов и NO-синтаз осуществляли на 135 крысах-самках массой $241 \pm 4,6$ г. Для этого были сформированы группы животных (в связи с высокой гибелью во время эксперимента количество животных набиралось до 6 выживших): 1) интактная, $n=14$; 2) стресс+физ. р-р, $n=18$; 3) стресс+аминогуанидин, $n=6$; 4) стресс+7-нитроиндазол, $n=6$; 5) стресс+L-NAME, $n=31$; 6) стресс+бикукулин, $n=6$; 7) стресс+РГПУ-238+аминогуанидин, $n=6$; 8) стресс+РГПУ-238+7-нитроиндазол, $n=6$; 9) стресс+РГПУ-238+L-NAME, $n=6$; 10) стресс+РГПУ-238+бикукулин, $n=6$; 11) стресс+фенибут+аминогуанидин, $n=6$; 12) стресс+фенибут+7-нитроиндазол, $n=6$; 13) стресс+фенибут+L-NAME, $n=12$; 14) стресс+фенибут+бикукулин, $n=6$.

Оценка влияния исследуемого соединения на ино- и хронотропные резервы сердца у животных разных возрастных групп проводилась на 78 крысах-самках предаварительно рандомизированных по возрасту и массе (6 месяцев, $m=265 \pm 19,0$ г; 12 месяцев, $m=328 \pm 13,7$ г; 24 месяца, $m=355 \pm 15,6$ г). Были сформированы следующие группы животных: 3 интактных в возрасте 6 ($n=6$), 12 ($n=6$), 24 ($n=6$) месяцев; 3 контрольных (стресс+физ. р-р) - 6 ($n=8$), 12 ($n=6$), 24 ($n=7$) месяцев; 3 группы стрессированных животных, получавших РГПУ-238 в дозе 28,7 мг/кг в/бр

— 6 (n=6), 12 (n=7), 24 (n=7) месяцев; 3 группы стрессированных крыс, которым вводили фенибут в дозе 25 мг/кг в/бр - 6 (n=7), 12 (n=6), 24 (n=6) месяцев.

Моделирование хронического стрессорного воздействия.

Эксперимент выполнен на 80 intactных крысах-самцах, предварительно рандомизированных по возрасту и массе (12 месяцев, $m=379\pm 2,6$ г; 24 месяца, $m=410\pm 6,5$ г).

Были сформированы следующие группы животных: 2 intactные в возрасте 12 (n=10) и 24 (n=10) месяцев; 2 контрольные (стресс+физ. р-р) - 12 (n=10), 24 (n=10) месяцев; 2 группы стрессированных животных, которым вводили соединение РГПУ-238 в дозе 28,7 мг/кг — 12 (n=10), 24 (n=10) месяцев; 2 группы стрессированных крыс, получавших фенибут в дозе 25 мг/кг - 12 (n=10), 24 (n=10) месяцев.

Животные подвергались стрессированию в течение 7 дней (ежедневно по 30 минут) в специальной установке (6 изолированных отсеков одинакового объема) со сменой разномодальных стрессорных раздражителей (пульсирующий свет, громкий звук и вибрация) каждые 5 минут по стахостической схеме, таким образом, что каждое последующее стрессирующее воздействие было непредсказуемым для животных (Тюренков И.Н. и др., 2013). Исследуемое соединение и препарат сравнения фенибут вводились перорально 1 раз в день за 30 мин до стрессирования в течение недели.

Изучение кардиопротекторного действия исследуемых веществ при остром и хроническом стрессорном воздействии осуществлялось с использованием нагрузочных проб нагрузки объемом (быстрое внутривенное введение животным физиологического раствора из расчета 0,3 мл/на 100 г массы); пробы на адренореактивность (внутривенное введение адреналина в разведении 10^{-7} г/мл из расчета 0,1 мл/100 г массы животного); максимальной изометрической нагрузки (пережатие восходящей части дуги аорты в течение 30 с) (Тюренков И.Н. и др., 1981; Спасов А.А. и др., 2006; Перфилова В.Н., 2009).

Перед проведением нагрузочных проб животных наркотизировали (хлоралгидрат 400 мг/кг в/бр) и после перевода на искусственную вентиляцию

легких в четвертом межреберье осуществляли торакотомию, затем перикардотомию. Через верхушку сердца в полость левого желудочка вводился катетер и посредством компьютерного гемодинамического анализатора на базе программы BEAT (Москва, Россия) регистрировали показатели кардиогемодинамики: скорость сокращения ($+dP/dt \max$) (мм.рт.ст/сек), скорость расслабления ($-dP/dt \max$) (мм.рт.ст/сек) миокарда, левожелудочковое давление (ЛЖД, мм рт. ст.), частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин). Показатель максимальной интенсивности функционирования структур миокарда (МИФС) рассчитывался по формуле: $(\text{ЛЖД}_{\text{ср.}} \times \text{ЧСС}_{\text{ср}}) / \text{масса левого желудочка} + 1/3 \text{ межжелудочковой перегородки}$ (Тюренков И.Н. и др., 2012).

Изучение эндотелиопротекторного действия проводили у крыс, подвергшихся хроническому стрессированию, по изменению кровотока в проекции среднемозговой артерии при модификации синтеза эндогенного NO внутривенным введением анализаторов – ацетилхолина (АЦХ) (0,01 мг/кг, Acros organics, США); нитроглицерина (0,007 мг/кг, МТХ, Москва) и нитро-L-аргинина - блокатора синтеза NO (10 мг/кг, Acros organics, США) с использованием метода высокочастотной ультразвуковой доплерографии («Минимакс-Допплер-К», г. Санкт-Петербург) (Тюренков И.Н. и др., 2007).

Изучение антиагрегантной активности проводилось на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов НПФ «Биола» (модель 220 LA) (г. Москва, Россия) по методу Born G. в модификации Габбасова З.А. и соавт. (1989). В основе метода лежит степень изменения светопропускания обогащенной тромбоцитами плазмы после введения в нее тромбоцитагрегирующего агента. В исследовании использовалась богатая тромбоцитами плазма. Для этого кровь стабилизировали 3,8% раствором 5,5-водного цитрата натрия в соотношении 9:1 и центрифугировали 10 минут при 1000 об/мин на центрифуге Elmi CM-6M (Латвия). Бедную тромбоцитами плазму получали повторным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 15 минут. В кювету агрегометра вносили 0,3 мл плазмы и инкубировали в течение 3 минут при температуре 37° С. Затем добавляли индуктор агрегации – динатриевую соль аденозин-5-

дифосфорной кислоты (АДФ) (фирмы НПО РЕНАМ, Россия) в конечной концентрации 5 мкМ. В результате получали кривые, отражающие падение оптической плотности обогащенной тромбоцитами плазмы. Уровень и скорость агрегации оценивали по величине максимальной амплитуды и наклону агрегатограммы.

Изучение показателей системы гемостаза определяли на программируемом оптико-механическом коагулометре - Минилаб 701 (Россия) с использованием наборов для определения протромбинового времени, тромбин-теста, фибриноген-теста, активированного частичного тромбопластинового времени (производство НПО РЕНАМ, Россия) (Габбасов З.А. и др., 1989). Забор крови проводился из брюшного отдела аорты. Кровь стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1.

Изучение мембранопротекторных свойств соединений проводилось с использованием моделей кислотного и осмотического гемолиза.

Для оценки кислотной резистентности эритроцитов использовалась методика Терского И.А. и Гительзона И.И. (1961). В основе ее лежит фотометрическая регистрация снижения оптической плотности эритроцитов вследствие их гемолиза. Трижды отмытые в 0,9% растворе NaCl эритроциты ресуспендировали в 5мл этого же раствора в количестве 0,01 мл. Индуцировали гемолиз добавлением 0,01 N раствора соляной кислоты. Ход определения: в кювету вносили 290 мкл суспензии эритроцитов и магнитную мешалку при скорости вращения 800 об/мин. Кювету помещали в термостатируемую ячейку и на 10 секунде после включения записи добавляли 10 мкл 0,01N раствора соляной кислоты. Кислотную резистентность эритроцитов оценивали по времени достижения половины величины максимальной амплитуды эритрограммы ($T_{1/2}$ гемолиза) (Терской И.А. и др., 1961). Эксперименты проводились на лазерном анализаторе агрегации «Биола».

Осмотическую резистентность эритроцитов определяли по концентрации экстрацеллюлярного гемоглобина согласно методике Katoh M. (2001). Для этого в одну пробирку добавляли 4,95 мл 0,45% раствора NaCl, в

другую – 4,95 мл 0,55% раствора NaCl, и в третью - 4,95 мл дистиллированной воды. После этого во все пробирки вносили 50 мкл эритроцитов и оставляли инкубировать 60 минут при температуре 37°C. После этого растворы центрифугировали 10 мин при 1000 об/минуту на центрифуге Elmi CM-6M (Латвия). Затем на спектрофотометре ПЭ-5400В Экрос (Россия) измеряли величину светопоглощения надосадочной жидкости при длине волны 540 нм, в сравнении с аналогичными образцами проб эритроцитов, ресуспендированных в дистиллированной воде. Процент гемолиза рассчитывался как отношение экстинкции опытной пробы (0,45% раствора натрия хлорида) к экстинкции водного гемолизата.

Изучение противогипоксических свойств соединений проводилось на 18 мышах-самцах массой 29 ± 2 г. на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Для этого животных помещали по одному в герметически закрываемые контейнеры объемом 200 см³ и регистрировали время до наступления апноэ (Торкунов П.А. и др., 2000; Воронина Т.А. и др., 2000; Хабриев Р.У., 2005).

Выраженность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) изучали на 32 крысах-самках массой 200-250, находящихся в стадии диэструса. Животных подвергали 24-х часовому иммобилизационно-болевому стрессированию путем подвешивания крысы за дорсальную кожную шейную складку на 24 часа (Ковалев Г.В. и др., 1983).

Было сформировано 4 группы по 8 животных в каждой: 1 - группа позитивного контроля (интактные крысы); 2 - группа негативного контроля - стрессированные самки, получавшие 0,9%-ный раствор хлорида натрия в аналогичном с опытными группами режиме; 3 и 4 - опытные группы, в которых животным соответственно вводили внутривентально до подвешивания соединение РГПУ-238 (в дозе 28,7 мг/кг) и препарат сравнения фенибут (в дозе 50 мг/кг).

После стрессирования животных декапитировали, извлекали сердце, промывали ледяным физиологическим раствором и гомогенизировали в

стеклянном гомогенизаторе Поттера. Полученный гомогенат центрифугировали 10 мин (с охлаждением) при 600 G для осаждения дебриса и неразрушенных клеток. Надосадочную жидкость вновь центрифугировали 20 мин на максимальной скорости (8 000 G). Полученный осадок ресуспендировали и использовали в качестве митохондриальной фракции (Lanza I.R. et al., 2009), в которой определяли продукты перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов. Концентрацию белка определяли с использованием коммерческого набора «Pierce™ BCA Protein Assay Kit» (Thermo Scientific, США).

Интенсивность ПОЛ исследовали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК), дикетонов и малонового диальдегида (МДА).

Определение концентрации диеновых конъюгатов и дикетонов проводили по методу Ушкаловой В.Н. и соавт. (1993). 250 мкл исследуемой пробы экстрагировали 5 мл смеси гептан-изопропанола в соотношении 1:1 в течение 1 минуты. Затем центрифугировали 10 минут при 2000 об/мин. Фракции разделяли добавлением 500 мкл дистиллированной воды, отстаивали в течение 5 минут. Гептановую фазу спектрофотометрировали в кварцевых кюветах на спектрофотометре Helios (Великобритания) при длине волны поглощения 233 нм (диеновые конъюгаты) и 278 нм (дикетоны).

МДА определяли по методу И.Д. Стальной (1977). Для этого брали 600 мкл 1,3% ортофосфорной кислоты и 40 мкл сульфата железа (II), добавляли 200 мкл пробы, перемешивали и вносили 200 мкл 0,7% р-ра тиобарбитуровой кислоты (ТБК). Затем выдерживали на кипящей водяной бане 30 минут и центрифугировали в течение 10 минут при 8000 об/мин. После этого отбирали верхнюю фазу и спектрофотометрировали против контроля (без пробы) при длине волны 532 нм на спектрофотометре Helios (Великобритания).

Антиоксидантный статус оценивали измерением на спектрофотометре Helios (Великобритания) активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы (ГП).

Определение активности супероксиддисмутазы проводили по методу В.А. Костюка (1990), который основан на реакции окисления кверцетина. К 4,4 мл

0,015 М фосфатного буфера рН 7,8, содержащего 0,08 мМ этилендиаминтетраацетата и 0,8 мМ тетраметилэтилендиамина, вносили 0,5 мл плазмы крови, в холостую и контрольную пробы добавляли 0,5 мл 0,9% NaCl. Реакцию запускали 0,1 мл раствора кверцетина в диметилсульфоксиде (ДМСО) (1 мг на 5 мл), в холостую пробу вносили 0,1 мл ДМСО.

Измеряли оптическую плотность проб на 0 и 20 минуте при длине волны $\lambda=406$ нм против холостой пробы в кювете с длинной оптического пути 1 см. Расчет процента ингибирования проводили по формуле:

$$I = 100 - \frac{D_{оп0} - D_{оп20}}{D_{кон0} - D_{кон20}} \times 100$$

где I – процент ингибирования; $D_{оп}$ и $D_{кон}$ – оптические плотности опытной и контрольной проб.

Активность каталазы изучали с использованием метода, основанного на способности пероксида водорода образовывать стойкий окрашенный комплекс с солями аммония (Королук М.А. и др., 1988). Ход определения: 20 мкл плазмы добавляли к 2 мл 0,03% раствора H_2O_2 , который получали разведением 0,1 мл 40,59% H_2O_2 в 100 мл Na-P-буфера, рН 6,8. В холостую пробу вносили 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливали добавлением 1 мл 4% раствора молибдата аммония после 20 минут инкубации при 37°C, центрифугировали 20 минут при 8000 об/мин. Экстинкцию определяли при длине волны 410 нм против контроля на спектрофотометре Helios (Великобритания). За единицу активности каталазы принимали то количество фермента, которое участвовало в превращении 1 мккат H_2O_2 за 1 сек при заданных условиях.

Расчёт производили по формуле (Зайцев В.Г. и др., 2002):

$$y = 4.7052x^2 + 0.9456x + 0.1876$$

$$\text{Активность} = 13.64 - 1.55y$$

$$x = \Delta E (\text{контр} - \text{опыт})$$

Активность глутатионпероксидазы оценивали по убыли восстановленного глутатиона в реакции с 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной кислотой) (ДТНБК). В две пробирки вносили 50 мкл биологического материала,

предварительно осаждали белок в контрольной пробе добавлением 100 мкл 20%-ной трихлоруксусной кислоты (ТХУК). Затем добавляли 2,5 мл буферного раствора (0,1 Н трис-НСl, рН 8,5; содержавшего 6 мМ ЭДТА; 12 мМ азида натрия – 0,78 г NaN₃ / л; 4,8 мМ GSH – 1.5 г/л) и 50 мкл свежее-приготовленного 20 мМ раствора ГПТБ – 1,8 г/л в физиологическом растворе. После 5 минут инкубации при комнатной температуре добавляли 100 мкл 20%-ного раствора ТХУК в опытную пробу, центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин, 50 мкл реактива Элмана (10 мМ раствора ДТНБК (4 г/л) в этаноле) вносили в 2,45 мл надосадочной жидкости. Фотометрировали через 5 минут при длине волны 412 нм на спектрофотометре Helios (Великобритания).

Активность фермента определяли по разности концентраций GSH в опытной и контрольной пробах, расчёт активности проводили в моль GSH на 1 г ткани за 1 мин.

Методы статистической обработки

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием пакета прикладных программ «Statistika 10». В работе использовались параметрические и непараметрические методы, с учетом предварительной проверки выборок на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Для выявления различий между выборками применяли t-критерий Стьюдента для парных сравнений и с поправкой Бонферрони – для множественных, критерии Краскела-Уоллиса с пост-хок тестом Данна, Манна–Уитни для множественных сравнений. Статистически достоверными различия считали при значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ПОИСК ВЕЩЕСТВ С КАРДИОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

3.1 Изучение влияния производных глутаминовой кислоты на функциональные резервы сердца стрессированных животных

Известно, что тяжелое стрессорное воздействие приводит к депрессии сократительной функции миокарда, которая проявляется снижением скоростей сокращения и расслабления, ударного и минутного объемов и уменьшением функциональных резервов сердца. В этой связи, является актуальным поиск веществ, ограничивающих повреждающее действие стресса на сократительную функцию миокарда. В качестве потенциальных кардиопротекторных веществ можно рассматривать производные глутаминовой кислоты.

Скрининг веществ проводили на 72 крысах-самках, находящихся во время стрессирования в стадии диэструса. Животных подвергали 24 часовому иммобилизационно-болевному стрессированию, после которого проводили нагрузочные тесты: пробу на адренореактивность и максимальную изометрическую нагрузку.

Исследуемые соединения вводили внутривентрикулярно за 10 минут до и через 10 минут после стрессирования. По результатам прироста скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, ЧСС и МИФС в ответ на нагрузочные пробы (проба на адренореактивность и максимальная изометрическая нагрузка) оценивали влияние веществ на функциональные резервы стрессированного миокарда.

Установлено, что на 20 секунде проведения пробы на адренореактивность прирост скорости сокращения ($+dP/dt \max$), расслабления миокарда ($-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС у группы интактных животных составил 52,7; 43,7; 52,8 и 28,6% соответственно по сравнению с исходными значениями. В условиях максимальной изометрической нагрузки у интактных животных через 5 сек после

окклюзии восходящей части дуги аорты прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил 61,3; 53,9; 70,1 и 122,6%, на 30 секунде - 44,7; 36,7; 51,0 и 86,1% соответственно относительно исходных данных (Таблица 2).

У животных, подвергшихся острому стрессорному воздействию, прирост показателей сократимости миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС на 20 с нагрузки адреналином был равен 26,6 ($p<0,05$); 22,2 ($p<0,05$); 26,7 ($p<0,05$) и 19,9% соответственно по отношению к исходу, что было существенно ниже значений интактной группы. При проведении максимальной изометрической нагрузки прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты составил 37,2; 42,3; 37,2 ($p<0,05$) и 63,2 ($p<0,05$)% соответственно по сравнению с исходными значениями, что также было ниже прироста группы интактных животных. Через 30 сек работы сердца в изометрическом режиме у стрессированных животных прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил 16,7; 15,8 ($p<0,05$); 17,2 ($p<0,05$) и 7,4 ($p<0,05$)% соответственно по сравнению с исходными данными, что было ниже значений интактной группы и свидетельствует о выраженном, статистически значимом снижении ино- и хронотропных резервов сердца в условиях стрессорного воздействия (Таблица 2).

Таблица 2. Влияние исследуемых соединений и препарата сравнения фенибута на прирост скорости сокращения ($+dP/dt \max$), скорости расслабления миокарда ($-dP/dt \max$), левожелудочкового давления (ЛЖД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и максимальной интенсивности функционирования структур (МИФС) у стрессированных животных при проведении нагрузочных проб ($M \pm m$).

Группы животных	Проба на адренореактивность, прирост показателей в %			
	$+dP/dt \max$	$-dP/dt \max$	ЛЖД	ЧСС
Интактная	$52,7 \pm 4,4$	$43,7 \pm 9,4$	$52,8 \pm 5,4$	$28,6 \pm 8,1$
Стресс+физ.р-р (контрольная)	$26,6 \pm 6,6^*$	$22,2 \pm 7,5^*$	$26,7 \pm 6,7^*$	$19,9 \pm 8,0$
Стресс+фенибут	$45,8 \pm 2,6^\#$	$49,9 \pm 3,2^\#$	$52,0 \pm 4,0^\#$	$30,0 \pm 7,8$
Стресс+РГПУ-135	$43,2 \pm 3,5^\#$	$54,4 \pm 4,0^\#$	$46,0 \pm 9,7^\#$	$22,1 \pm 3,4$
Стресс+РГПУ-238	$54,3 \pm 4,5^\#$	$64,2 \pm 8,4^\#$	$70,1 \pm 9,2^\#$	$39,7 \pm 4,8^\#$
Стресс+РГПУ-239	$36,4 \pm 8,3$	$49,0 \pm 6,2^\#$	$49,0 \pm 9,2^\#$	$38,3 \pm 6,9^\#$
Стресс+РГПУ-240	$38,6 \pm 7,9^\#$	$38,6 \pm 8,0$	$40,2 \pm 7,6^\#$	$30,6 \pm 2,8$
Стресс+РГПУ-241	$55,6 \pm 7,5^\#$	$47,2 \pm 4,7^\#$	$49,6 \pm 8,0^\#$	$26,9 \pm 7,3$
Стресс+РГПУ-222	$54,2 \pm 4,7^\#$	$42,3 \pm 8,3$	$42,3 \pm 6,4^\#$	$8,7 \pm 2,7$
Стресс+РГПУ-223	$34,6 \pm 6,8$	$43,8 \pm 8,6^\#$	$32,9 \pm 7,3$	$19,8 \pm 6,9$
Стресс+РГПУ-233	$19,2 \pm 5,4$	$20,3 \pm 5,9$	$20,3 \pm 6,2$	$5,5 \pm 3,2$
Стресс+РГПУ-234	$41,6 \pm 3,1$	$31,5 \pm 5,8$	$39,2 \pm 4,4^\#$	$17,6 \pm 5,8$

Продолжение таблицы 2.

Максимальная изометрическая нагрузка, прирост показателей в %								
Группы животных	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	61,3±5,2	44,7±5,5	53,9±9,1	36,7±5,9	70,1±4,1	51,0±5,8	122,6±10,8	86,1±13,1
Стресс+физ.р-р (контрольная)	37,2±8,3	16,7±8,5	42,3±6,3	15,8±9,1*	37,2±8,4*	17,2±8,7*	63,2±12,2*	7,4±9,7*
Стресс+фенибут	50,8±2,6 [#]	39,6±2,1 [#]	50,3±3,0 [#]	37,6±4,8 [#]	93,0±7,9 [#]	82,9±9,2 [#]	143,0±7,2 [#]	124,1±10,3 [#]
Стресс+РГПУ-135	70,3±7,5	49,2±4,8 [#]	71,7±3,5	48,3±6,1	82,6±6,1 [#]	57,4±7,8 [#]	114,0±18,6	71,3±18,2 [#]
Стресс+РГПУ-238	63,2±8,2 [#]	39,6±4,6 [#]	60,8±6,5 [#]	33,9±5,0 [#]	111,7±7,1 [#]	92,9±6,4 [#]	208,5±25,6 [#]	154,8±22,3 [#]
Стресс+РГПУ-239	50,9±7,4 [#]	30,2±7,9	62,3±8,9	38,1±4,6	62,9±7,2 [#]	49,2±8,7 [#]	114,2±16,5 [#]	78,7±16,2 [#]
Стресс+РГПУ-240	42,8±5,9	17,9±3,9	48,0±4,2	17,5±5,2	57,3±5,6 [#]	17,4±9,0	105,3±10,1 [#]	43,7±11,4
Стресс+РГПУ-241	45,1±3,9 [#]	27,9±2,9	54,7±7,8	27,0±8,7	73,2±8,0 [#]	51,3±10,9	102,8±13,7 [#]	61,4±10,9 [#]
Стресс+РГПУ-222	23,5±0,8	8,2±0,1	20,5±1,1	5,1±2,1	24,0±0,9	8,2±0,2	32,9±0,8	12,0±0,6
Стресс+РГПУ-223	60,8±10,4	51,3±8,8 [#]	57,3±9,1	46,6±9,7 [#]	48,7±8,6	40,2±8,3	93,2±22,1	76,8±23,1
Стресс+РГПУ-233	23,6±2,0	14,8±1,6	18,3±1,7	4,9±2,8	26,1±2,6	16,9±2,4	52,7±5,0	34,7±3,3 [#]
Стресс+РГПУ-234	42,2±5,5	32,2±5,5	39,7±4,6	24,3±3,9	40,3±5,7	30,1±5,9	76,8±5,1 [#]	55,1±4,9 [#]

Примечание:

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p < 0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни;

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p < 0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

У стрессированных животных, получавших препарат сравнения – фенибут, прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД в ответ на нагрузку адреналином равнялся 45,8 ($p<0,05$); 49,9 ($p<0,05$) и 52,0 ($p<0,05$)% относительно исходных значений, что было достоверно выше показателей стрессированных животных контрольной группы, прирост ЧСС - 30,0%. При окклюзии восходящей части дуги аорты прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС на 5 секунде был равен 50,8 ($p<0,05$); 50,3 ($p<0,05$); 93,0 ($p<0,05$) и 143,0 ($p<0,05$)% по сравнению с исходными значениями, что достоверно превышало значения контрольной группы стрессированных животных. Через 30 секунд работы сердца в изометрическом режиме прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС относительно исхода составил 39,6 ($p<0,05$); 37,6 ($p<0,05$); 82,9 ($p<0,05$) и 124,1 ($p<0,05$)%, что также оставалось выше таковых значений группы контроля (Таблица 2).

При скрининге веществ с кардиопротекторным действием среди производных глутаминовой кислоты на 20 с проведения пробы с адреналином у стрессированных животных, получавших гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты - соединение РГПУ-135, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС относительно исходных значений составил 43,2 ($p<0,05$); 54,4 ($p<0,05$); 46,0 ($p<0,05$) и 22,1% соответственно, что было достоверно выше по сравнению с контрольной группой стрессированных животных. При окклюзии восходящей части дуги аорты прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС относительно исхода составил на 5 секунде 70,3; 71,7; 82,6 ($p<0,05$) и 114,0% соответственно. На 30 секунде прирост был равен — 49,2 ($p<0,05$); 48,3; 57,4 ($p<0,05$) и 71,3 ($p<0,05$)% по сравнению с исходными данными, что существенно превосходило показатели группы сравнения (Таблица 2).

Модификация соединения РГПУ-135 замещением двух гидроксильных групп метильными радикалами привела к образованию диметилового эфира гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты – соединение РГПУ-238, которое в большей степени, чем соединение РГПУ-135 способствует увеличению функциональных резервов сердца у стрессированных животных при проведении

нагрузочных проб. Введение исследуемого соединения способствовало приросту $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС в ответ на нагрузку адреналином, который составил 54,3 ($p<0,05$); 64,2 ($p<0,05$); 70,1 ($p<0,05$) и 39,7 ($p<0,05$)% соответственно по сравнению с исходными значениями, что было достоверно выше относительно прироста контрольной группы. В условиях максимальной изометрической нагрузки у стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-238, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС через 5 сек после окклюзии восходящей части дуги аорты составил 63,2 ($p<0,05$); 60,8 ($p<0,05$); 111,7 ($p<0,05$) и 208,5 ($p<0,05$)% соответственно относительно исхода, что также значительно превышало прирост группы контроля. На 30-й секунде прирост равнялся 39,6 ($p<0,05$); 33,9 ($p<0,05$); 92,9 ($p<0,05$) и 154,8 ($p<0,05$)% соответственно, что было статистически значимо выше по сравнению с показателями контрольной группы стрессированных животных и свидетельствует о способности соединения РГПУ-238 повышать и сохранять функциональные резервы сердца в условиях стресса на достаточно высоком уровне (Таблица 2).

Замещение метильных групп этильными привело к образованию диэтилового эфира гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты (соединение РГПУ-239). Прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС при проведении пробы на адренореактивность составил 36,4; 49,0 ($p<0,05$); 49,0 ($p<0,05$) и 38,3 ($p<0,05$)% соответственно относительно исхода, что достоверно превосходило прирост группы контроля. При проведении максимальной изометрической нагрузки на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС был равен 50,9 ($p<0,05$); 62,3; 62,9 ($p<0,05$) и 114,2 ($p<0,05$)% по отношению к исходу, что также существенно превосходило показатели контрольной группы стрессированных животных. На 30 секунде показатели сократимости, ЛЖД и МИФС составили 30,2; 38,1; 49,2 ($p<0,05$) и 78,7 ($p<0,05$)%, что оставалось значительно выше прироста группы контроля (Таблица 2).

Присоединение хлора к фенильному кольцу диметилового эфира гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты (соединение РГПУ-240), так же как и введение в бензольное кольцо атома азота (соединение РГПУ-241), не приводило к увеличению кардиопротекторной активности. При проведении пробы на адренореактивность в группе животных, получавших соединение РГПУ-240, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 38,6 ($p<0,05$); 38,6; 40,2 ($p<0,05$) и 30,6% относительно исходных значений, что превышало значения прироста группы контроля. В условиях максимальной изометрической нагрузки на 5 секунде окклюзии аорты прирост ЛЖД и МИФС составил 57,3 ($p<0,05$) и 105,3 ($p<0,05$)% относительно исхода, что было достоверно выше показателей контрольной группы, прирост $+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$ был равен 42,8 и 48,0%, что существенно не отличалось от контроля. Через 30 секунд после пережатия восходящей части дуги аорты прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС относительно исходных значений составил 17,9; 17,5; 17,4 и 43,7% соответственно, что не превышало показатели контрольной группы стрессированных животных (Таблица 2).

У животных, получавших соединение РГПУ-241, прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД в ответ на нагрузку адреналином равнялся 55,6 ($p<0,05$); 47,2 ($p<0,05$) и 49,6 ($p<0,05$)% относительно исходных значений, что было достоверно выше показателей стрессированных животных контрольной группы, прирост ЧСС - 26,9%. При окклюзии восходящей части дуги аорты прирост $+dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС на 5 секунде был равен 45,1 ($p<0,05$); 73,2 ($p<0,05$); 102,8 ($p<0,05$)% по сравнению с исходными значениями, что достоверно превышало значения контрольной группы стрессированных животных, прирост $-dP/dt \max$ - 54,7%. Через 30 секунд работы сердца в изометрическом режиме прирост МИФС относительно исхода составил 61,4 ($p<0,05$)%, что также оставалось выше контроля, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД - 27,9; 27,0 и 51,3% относительно исходных значений (Таблица 2).

При скрининге веществ с кардиопротекторным действием среди композиций 3-фенилглутамата с органическими кислотами выявлено, что наиболее выраженной активностью обладают композиции с лимонной (соединение РГПУ-222) и янтарной (соединение РГПУ-223) кислотами. При проведении пробы на адренореактивность в группе стрессированных животных, получавших РГПУ-222, прирост скорости сокращения миокарда и ЛЖД относительно исхода соответствовал 54,2 ($p<0,05$) и 42,3 ($p<0,05$)%, что было достоверно выше значений контрольной группы, прирост скорости расслабления миокарда и ЧСС равнялся 42,3 и 8,7% что существенно не отличалось от группы контроля. При проведении максимальной изометрической нагрузки на 5 секунде окклюзии аорты прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС по отношению к исходным значениям был равен 23,5; 20,5; 24,0 и 32,9%, а на 30 секунде – 8,2; 5,1; 8,2 и 12,0% соответственно, что не отличалось от значений контрольной группы (Таблица 2).

В группе стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-223, прирост скорости расслабления миокарда в ответ на нагрузку адреналином составил 43,8 ($p<0,05$)% относительно исхода, что достоверно превосходило значение контрольной группы, прирост скорости сокращения миокарда, ЛЖД и ЧСС равнялся 34,6; 32,9 и 19,8% соответственно, что значимо не отличалось от группы контроля. На 5 секунде проведения максимальной изометрической нагрузки прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС соответствовал 60,8; 57,3; 48,7 и 93,2% по сравнению с исходными значениями, что было несколько выше показателей контрольной группы стрессированных животных. Через 30 секунд окклюзии восходящей части дуги аорты прирост показателей $+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$ составил 51,3 ($p<0,05$) и 46,6 ($p<0,05$)% соответственно относительно исходных параметров, что было достоверно выше значений контрольной группы животных, прирост ЛЖД и МИФС составил 40,2 и 76,8% соответственно. Однако полученные результаты свидетельствуют о том, что данные соединения не превосходят по силе кардиопротекторного действия соединение РГПУ-238 (Таблица 2).

Композиции 3-фенилглутаминовой кислоты с яблочной (соединение РГПУ-233) и салициловой (соединение РГПУ-234) кислотами оказались малоактивными при проведении нагрузочных проб. При введении соединения РГПУ-233 стрессированным животным прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС относительно исходных значений в ответ на нагрузку адреналином равнялся 19,2; 20,3; 20,3 и 5,5% соответственно, достоверных различий с показателями контрольной группы выявлено не было. На 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС относительно исходных параметров был равен 23,6; 18,3; 26,1 и 52,7%, а на 30 секунде – 14,8; 4,9; 16,9 и 34,7 ($p < 0,05$)% соответственно, что также значимо не отличалось от значений группы контроля (Таблица 2).

В группе животных, получавших соединение РГПУ-234 прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и ЧСС при проведении пробы на адренореактивность составил 41,6; 31,5; 39,2 ($p < 0,05$) и 17,6% соответственно по сравнению с исходом. При проведении максимальной изометрической нагрузки на 5 секунде окклюзии аорты прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС относительно исходных значений равнялся 42,2; 39,7; 40,3 и 76,8 ($p < 0,05$)%, а на 30 секунде - 32,2; 24,3; 30,1 и 55,1 ($p < 0,05$)% соответственно, что существенно не отличалось от таковых показателей группы контроля (Таблица 2).

Таким образом, скрининговое исследование кардиопротекторных свойств 9 производных глутаминовой кислоты в условиях 24 часового иммобилизационно-болевого стрессирования позволило выявить соединения, повышающие функциональные резервы сердца в условиях стрессорного повреждения миокарда – РГПУ-135, РГПУ-238 и РГПУ-239. Наиболее активным оказалось соединение РГПУ-238, которое по силе кардиопротекторного эффекта не уступает препарату сравнения фенибуту.

Полученные в этой серии экспериментальные данные послужили основанием к проведению более углубленного изучения кардиопротекторных свойств соединения РГПУ-238 и, в частности, их зависимости от дозы.

3.2 Изучение зависимости кардиопротекторного эффекта соединения РГПУ-238 от дозы

Настоящая серия экспериментов преследовала решение задачи определения зависимости «доза-эффект» и поиск оптимальных эффективных и безопасных доз соединения РГПУ-238.

Данное исследование проведено с целью определения зависимости кардиопротекторного эффекта соединения РГПУ-238 от дозы (14,5; 28,7 и 57,4 мг/кг в/бр) по динамике ино- и хронотропной функции сердца в условиях острого стрессорного воздействия.

Эксперименты проведены на 30 белых беспородных крысах-самках массой 250-280 г, подвергшихся 24 часовому иммобилизационно-болевому стрессированию. Для оценки кардиопротекторного действия исследуемого соединения использовались проба на адренореактивность и максимальная изометрическая нагрузка.

Обнаружено, что при стимуляции адренорецепторов сердца у интактной группы животных прирост показателей сократимости миокарда, левожелудочкового давления и частоты сердечных сокращений относительно исходных значений составил 61,4; 45,1; 62,4 и 20,8% соответственно. У животных, подвергшихся острому иммобилизационно-болевому стрессированию, при введении адреналина прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС равнялся 25,1; 37,5; 32,7 и 25,0% соответственно по сравнению с исходными показателями, что было значительно ниже прироста интактной группы животных (Таблица 3).

Таблица 3. Влияние различных доз соединения РГПУ-238 на прирост скорости сокращения (+dP/dt max), скорости расслабления миокарда (-dP/dt max), левожелудочкового давления (ЛЖД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и максимальной интенсивности функционирования структур (МИФС) у стрессированных животных при проведении нагрузочных проб (M±m).

Группы животных	Проба на адренореактивность, прирост показателей в %							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		ЧСС	
Интактная	61,4±9,2		45,1±7,6		62,4±9,6		20,8±8,8	
Стресс+физ. р-р (контрольная)	25,1±4,1*		37,5±4,0		32,7±8,1*		25,0±6,7	
Стресс+РГПУ-238 14,5 мг/кг	38,0±7,3		34,4±7,3		49,3±7,8		18,9±7,2	
Стресс+РГПУ-238 28,7 мг/кг	54,3±4,5 [#]		64,2±10,3 [#]		70,1±9,2 [#]		39,8±4,8	
Стресс+РГПУ-238 57,4 мг/кг	50,0±8,5		49,5±6,9		54,8±9,7 [#]		29,2±9,0	
Максимальная изометрическая нагрузка, прирост показателей в %								
Группы животных	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	59,4±7,2	41,6±7,0	52,2±8,7	31,2±5,8	64,4±7,0	42,9±9,0	104,1±16,1	61,3±17,2
Стресс+физ. р-р (контрольная)	35,2±7,9	14,4±8,2*	39,6±9,3	13,3±8,3*	24,3±2,9*	5,4±4,9*	53,8±10,6*	12,9±7,1*
Стресс+РГПУ-238 14,5 мг/кг	54,6±9,1	32,3±9,7	49,4±8,5	29,2±9,6	71,5±7,5 [#]	55,4±6,2 [#]	114,0±22,8	75,0±19,1
Стресс+РГПУ-238 28,7 мг/кг	63,2±8,2	39,6±4,6 [#]	60,8±6,5 [#]	33,9±5,0 [#]	111,7±7,1 [#]	92,9±6,4 [#]	208,5±25,6 [#]	154,8±22,3 [#]
Стресс+РГПУ-238 57,4 мг/кг	60,7±5,8	39,5±5,5 [#]	57,7±9,9 [#]	36,6±9,8	105,5±13,2 [#]	82,3±12,9 [#]	185,2±29,1 [#]	129,8±23,7 [#]

Примечание:

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p < 0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни;

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p < 0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

При проведении максимальной изометрической нагрузки у интактных животных прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты равнялся 59,4; 52,2; 64,4 и 104,1% соответственно по отношению к исходным показателям. На 30 секунде проведения нагрузки прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил 41,6; 31,2; 42,9 и 61,3% соответственно. У стрессированных животных контрольной группы прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 секунде пережатия восходящей части дуги аорты был равен 35,2; 39,6; 24,3 и 53,8% соответственно относительно исхода, что было значительно меньше показателей интактной группы. Через 30 сек работы сердца в изометрическом режиме у контрольной группы стрессированных животных прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил 14,4; 13,3; 5,4 и 12,9% соответственно (Таблица 3).

В группе животных, получавших соединение РГПУ-238 в дозе 14,5 мг/кг, при проведении пробы на адренореактивность прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС относительно исходных значений составил 38,0; 34,4; 49,3 и 18,9% соответственно, что достоверно не отличалось от показателей контрольной группы. При окклюзии восходящей части дуги аорты на 5-ой секунде прирост показателей сократимости миокарда был равен 54,6 и 49,4% по сравнению с исходом, ЛЖД – 71,5%, МИФС – 114,0%. На 30 секунде проведения нагрузки прирост показателей составил 32,3; 29,2; 55,4 и 75,0% соответственно относительно исходных значений (Таблица 3).

При введении исследуемого соединения в дозе 28,7 мг/кг прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС в ответ на нагрузку адреналином был равен 54,3; 64,2; 70,1 и 39,8% соответственно по сравнению с исходными показателями, что было достоверно выше прироста стрессированных животных группы контроля. Прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС на 5 секунде изометрической нагрузки составил 63,2; 60,8; 111,7 и 208,5%, на 30 секунде – 39,6; 33,9; 92,9 и 154,8% соответственно относительно исхода, что было

достоверно выше прироста соответствующей контрольной группы животных (Таблица 3).

Дальнейшее увеличение дозы соединения РГПУ-238 до 57,4 мг/кг не приводило к усилению кардиопротекторного действия, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС в ответ на введение адреналина составил 50,0; 49,5; 54,8 и 29,2% соответственно относительно исхода. При проведении изометрической нагрузки прирост показателей сократимости, ЛЖД и МИФС на 5 секунде был равен 60,7; 57,7; 105,5 и 185,2%, на 30 секунде – 39,5; 36,6; 82,3 и 129,8% соответственно по отношению к исходным значениям (Таблица 3).

Таким образом, при изучении зависимости «доза-эффект» было установлено, что при проведении нагрузочных проб наиболее выраженную кардиопротекторную активность соединение РГПУ-238 проявляет в дозах 28,7 и 57,4 мг/кг в/бр. Поскольку, увеличение дозы исследуемого вещества до 57,4 мг/кг не приводило к усилению кардиопротекторного действия соединения РГПУ-238 в дальнейших исследованиях данное вещество использовали в дозе 28,7 мг/кг.

В результате проведенных испытаний установлено, что при внутрибрюшинном введении соединения РГПУ-238 LD_{50} равна 1619,8 (1339,0-1959,5) мг/кг. Гибель животных, как правило, наступала в течение первых двух часов. В дальнейшем у оставшихся в живых подопытных животных общее состояние нормализовалось. Терапевтический индекс (ТИ) равен 56,4. Исследуемое соединение соответствует 5 классу токсичности.

Таким образом, из проведенного эксперимента следует, что соединение РГПУ-238 обладает низкой токсичностью и большой широтой терапевтического действия.

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЯ РГПУ-238 В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ СТРЕСС- ЛИМИТИРУЮЩИХ СИСТЕМ

4.1 Влияние исследуемого соединения на ино- и хронотропные резервы сердца при блокаде различных NO-синтаз

Воздействие стрессорных факторов вызывает угнетение сократимости миокарда, а также снижение ино- и хронотропных резервов сердца (Меерсон Ф.З., 1984; Перфилова В.Н., 2009). Существующие в организме стресс-лимитирующие системы ограничивают стресс-реакцию и негативное влияние на органы-мишени, значительная роль в этом принадлежит NO- и ГАМК-ергической системам (Малышев И.Ю. и др., 2000; Gealekman O. et al., 2002).

Увеличение синтеза оксида азота при стрессе сдерживает активацию симпатико-адреналовой системы, ингибируя секрецию «гормонов и медиаторов стресса» - кортикотропин-рилизинг-фактора, АКТГ, вазопрессина и катехоламинов, модулирующих эндокринные, метаболические и др. реакции организма в ответ на воздействие различных стрессорных факторов (Манухина Е.Б. и др., 2000; Herbert J. et al., 2006).

В связи с этим представляется перспективным создание и разработка новых веществ, способных ограничивать стрессорное повреждение миокарда и активировать стресс-лимитирующие системы.

В результате проведенного эксперимента было установлено, что 24-х часовое иммобилизационно-болевое стрессирование контрольных групп животных приводит к снижению выживаемости крыс при проведении нагрузочных проб. После проведения нагрузки адреналином погибло 3 стрессированных животных из 18.

Подавление продукции синтеза оксида азота введением стрессированным животным неселективного блокатора NO-синтаз - L-NAME - вызывало

выраженное снижение устойчивости к стрессу и хирургическому вмешательству: 8 животных из 31 погибло во время стресса, 5 животных после наркоза, 6 животных при вскрытии грудной клетки и 5 после проведения пробы на адренореактивность. В группе животных, получавших препарат сравнения фенибут и L-NAME, 6 животных из 12 погибло во время стресса и одно после проведения нагрузки адреналином. В других группах животных случаев гибели не наблюдалось (Таблица 4).

Таблица 4. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на выживаемость животных при 24 часовом иммобилизационно-болевым стрессе в условиях блокады NO-синтазы и ГАМК_A-рецепторов.

Группы животных	Кол-во животных в группе	Гибель животных			
		Во время стрессирования	После наркоза	При вскрытии грудной клетки	После нагрузки адреналином
Интактная	14	0	0	0	0
Физ. р-р+стресс (контрольная)	18	0	0	0	3
Стресс+аминогуанидин	6	0	0	0	0
Стресс+7-нитроиндазол	6	0	0	0	0
Стресс+L-NAME	31	8	5	6	5
Стресс+бикукулин	6	0	0	0	0
Стресс+аминогуанидин+РГПУ-238	6	0	0	0	0
Стресс+аминогуанидин+фенибут	6	0	0	0	0
Стресс+7-нитроиндазол+РГПУ-238	6	0	0	0	0
Стресс+7-нитроиндазол+фенибут	6	0	0	0	0
Стресс+L-NAME+РГПУ-238	6	0	0	0	0
Стресс+L-NAME+фенибут	12	6	0	0	1
Стресс+бикукулин+РГПУ-238	6	0	0	0	0
Стресс+бикукулин+фенибут	6	0	0	0	0

Обнаружено, что при стимуляции адренорецепторов сердца у интактной группы животных прирост показателей сократимости миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), левожелудочкового давления и ЧСС на 20 секунде после введения адреналина составил по сравнению с исходными значениями 60,4; 62,6; 58,9 и 50,9% соответственно. У животных, подвергшихся длительному эмоционально-болевого стрессированию, при введении адреналина прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС был достоверно ниже по сравнению с интактной группой и равнялся 30,5; 29,8; 30,4 и 25,6%, соответственно относительно исходных данных (Таблица 5).

При проведении пробы на адренореактивность у стрессированных животных, получавших ингибитор индуцибельной NO-синтазы аминогуанидин в дозе 50 мг/кг, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД составил 31,7; 36,8 и 53,2 соответственно, в сравнении с исходными значениями, что было несколько выше значений группы контроля, прирост ЧСС был ниже и равнялся 16,9%. В группе животных, получавших соединение РГПУ-238 и аминогуанидин, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$ и ЛЖД был равен 49,5; 58,4 и 65,8% относительно исходных данных, что было достоверно выше по сравнению с показателями контрольной группы, прирост ЧСС составил 32,4%. При введении стрессированным животным, получавшим аминогуанидин, препарата сравнения - фенибута прирост показателей сократимости ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС равнялся 40,3; 27,9; 62,3 и 18,7% соответственно по отношению к исходным значениям и достоверно не отличался от прироста показателей группы животных, получавших аминогуанидин (Таблица 5).

Таблица 5. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на скорость сокращения (+dP/dt max) и расслабления миокарда (-dP/dt max), ЛЖД, ЧСС и МИФС у стрессированных животных в условиях блокады различных NO-синтаз при проведении нагрузочных проб (M±m).

Группы животных	Проба на адренореактивность, прирост показателей в %			
	+dP/dt max	-dP/dt max	ЛЖД	ЧСС
Интактная	60,4±7,7	62,6±9,6	58,9±8,1	50,9±6,9
Стресс+физ. р-р (контрольная)	30,5±2,4 [^]	29,8±3,5 [^]	30,4±3,7 [^]	25,6±3,9 [^]
Стресс+аминогуанидин	31,7±4,0	36,8±7,7	53,2±7,3	16,9±3,1
Стресс+аминогуанидин+РГПУ-238	49,5±3,3 ^{**}	58,4±6,8 ^{**}	65,8±6,0 ^{**}	32,4±2,7
Стресс+аминогуанидин+фенибут	40,3±9,6	27,9±5,8	62,3±13,5	18,7±6,6
Стресс+7-нитроиндазол	21,3± 1,5	18,8±3,5	25,1±3,1	16,4±2,2
Стресс+7-нитроиндазол+РГПУ-238	35,8±3,0 [#]	33,7±4,6 [#]	42,8±3,4 [#]	17,5±2,9
Стресс+7-нитроиндазол+фенибут	40,1±7,0	37,3±5,3	52,8±10,2	22,0±4,6
Стресс+L-NAME	12,8±2,6 [*]	17,6±7,4	18,4±4,4	13,3±6,3
Стресс+L-NAME+РГПУ-238	41,1±4,7 ^{##}	40,2±5,5 ^{##}	38,1±2,1 ^{##}	31,3±4,8
Стресс+L-NAME+фенибут	26,3±2,8	25,9±2,5	25,6±2,2	29,2±7,0

Продолжение таблицы 5.

Максимальная изометрическая нагрузка, прирост показателей в %								
Группы животных	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	59,7±5,9	45,6±5,9	54,5±5,8	40,1±5,4	95,5±12,2	80,5±12,7	168,7±22,1	133,0±21,7
Стресс+физ. р-р (контрольная)	42,5±4,0 [^]	21,3±3,4 [^]	42,4±5,2 [^]	17,7±4,6 [^]	60,6±4,5 [^]	37,8±5,2 [^]	98,4±7,9 [^]	45,4±4,5 [^]
Стресс+аминогуанидин	49,7±6,2	23,7±7,6	34,1±4,0	14,2±3,6	104,0±22,8	62,2±20,3	140,6±29,7	68,9±27,7
Стресс+аминогуанидин+РГПУ-238	49,3±6,6	27,8±7,6	54,4±18,6	21,3±9,0	116,6±27,0	82,0±28,1	176,8±36,6	97,9±40,8
Стресс+аминогуанидин+фенибут	39,5±13,6	22,0±10,2	46,6±4,4	28,3±4,3 ^{**}	84,1±18,8	62,2±16,7	120,2±27,6	77,3±25,3
Стресс+7-нитроиндазол	42,5±5,6	5,1±2,6 [*]	28,2±4,7	5,4±2,8	63,5±6,6	32,2±6,2	95,9±9,4	40,8±8,1
Стресс+7-нитроиндазол+РГПУ-238	60,9±11,1	39,2±9,9 [#]	58,3±9,3 [#]	36,7±7,6 [#]	112,0±6,9	83,9±8,3	183,2±21,2	119,3±18,5
Стресс+7-нитроиндазол+фенибут	52,3±5,7	36,4±4,3 [#]	45,3±6,3	26,7±5,5	55,5±15,1	35,0±14,7	97,3±34,6	53,9±23,3
Стресс+L-NAME	22,4±4,7 [*]	-0,1±4,8 [*]	18,2±2,3 [*]	-9,7±3,0 [*]	27,0±2,5	16,5±3,2	36,1±2,3	13,1±2,2
Стресс+L-NAME+РГПУ-238	32,3±1,2 ^{**}	14,5±2,8 ^{**}	27,8±3,4 ^{**}	14,0±5,8 ^{**}	53,8±9,8	35,7±8,4	147,8±16,3 ^{**}	104,5±20,9 ^{**}
Стресс+L-NAME+фенибут	26,8±2,5	6,3±1,6	22,0±1,9	5,8±1,5 ^{**}	36,3±0,6	15,8±1,4	66,5±1,2	16,4±2,8

Примечание:

[^] - изменения достоверны относительно интактной группы;^{*} - изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных;^{**} - изменения достоверны относительно группы стрессированных животных, получавших аминогуанидин;[#] - изменения достоверны относительно группы стрессированных животных, получавших 7-нитроиндазол;^{##} - изменения достоверны относительно группы стрессированных животных, получавших L-NAME, при p<0,05 (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

При проведении нагрузки адреналином у стрессированных животных, получавших селективный блокатор нейрональной NO-синтазы 7-нитроиндазол в дозе 50 мг/кг, прирост скорости сокращения, скорости расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС соответствовал 21,3; 18,8; 25,1 и 16,4% соответственно относительно исходных параметров, что было ниже по сравнению с показателями контрольной группы животных, получавших физиологический раствор. При введении стрессированному животному соединения РГПУ-238 и 7-нитроиндазола прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$ и ЛЖД был равен 35,8; 33,7 и 42,8% соответственно в сравнении с исходными данными, что достоверно превосходило значения группы животных получавших блокатор nNOS, прирост ЧСС практически не отличался и составил 17,5%. В группе животных, получавших фенибут и 7-нитроиндазол, прирост показателей сократимости, ЛЖД и ЧСС по отношению к исходу равнялся 40,1; 37,3; 52,8 и 22,0% соответственно, что существенно не отличалось от группы стрессированных животных, получавших блокатор нейрональной NO-синтазы (Таблица 5).

Неселективный блокатор NO-синтаз – L-NAME в дозе 10 мг/кг вызывал выраженное снижение показателей сократимости миокарда. У стрессированных животных в ответ на нагрузку адреналином: прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 12,8; 17,6; 18,4 и 13,3% соответственно относительно исходных значений. При введении животным, подвергшимся 24-х часовому стрессированию, L-NAME и соединения РГПУ-238, прирост скорости сокращения, расслабления миокарда и ЛЖД равнялся 41,1; 40,2 и 38,1% по отношению к исходным показателям, что было достоверно выше, по сравнению с группой стрессированных животных, получавших неселективный блокатор NO-синтаз, прирост ЧСС был равен 31,3%. В группе животных, получавших фенибут и L-NAME, прирост показателей сократимости, ЛЖД и ЧСС относительно исхода составил 26,3; 25,9; 25,6 и 29,2% соответственно (Таблица 5).

При проведении максимальной изометрической нагрузки у интактных животных прирост показателей сократимости миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и МИФС по сравнению с исходными значениями на 5 секунде окклюзии

восходящей части дуги аорты составил 59,7; 54,5; 95,5 и 168,7%, соответственно. Через 30 секунд проведения нагрузки прирост показателей по отношению к исходным данным составил 45,6; 40,1; 80,5 и 133,0% соответственно (Таблица 5).

В группе стрессированных животных прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 секунде составил 42,5; 42,4; 60,6 и 98,4% относительно исхода, а через 30 секунд - 21,3; 17,7; 37,8 и 45,4% соответственно, что было достоверно ниже по сравнению с показателями интактной группы животных (Таблица 5).

В группе животных, получавших аминогуанидин на 5 секунде окклюзии аорты прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил 49,7; 34,1; 104,0 и 140,6% по сравнению с исходом, через 30 секунд работы сердца в изометрическом режиме прирост исследуемых показателей составил 23,7; 14,2; 62,2 и 68,9% соответственно, что существенно не отличалось от соответствующей группы контроля. При введении соединения РГПУ-238 на 5 секунде проведения нагрузки прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС составил относительно исхода 49,3; 54,4; 116,6 и 176,8%, через 30 секунд – 27,8; 21,3; 82,0 и 97,9% соответственно, что практически не отличалось от контрольной группы. У стрессированных животных, получавших фенибут и аминогуанидин, прирост показателей сократимости, ЛЖД и МИФС на 5 секунде составил по сравнению с исходом 39,5; 46,6; 84,1 и 120,2%, а к 30 секунде прирост составил 22,0; 28,3; 62,2 и 77,3% соответственно (Таблица 5).

У стрессированных животных, получавших 7-нитроиндазол, в условиях проведения максимальной изометрической нагрузки на 5-ой секунде окклюзии аорты прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС составил 42,5; 28,2; 63,5 и 95,9% соответственно относительно фоновых значений. На 30 секунде работы сердца в изометрическом режиме прирост скорости сокращения и расслабления миокарда и ЛЖД составил 5,1; 5,4; 32,2 и 40,8%, соответственно, что было ниже показателей группы сравнения. В группе животных, получавших соединение-РГПУ-238 и 7-нитроиндазол, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС на 5 секунде составил 60,9; 58,3; 112,0 и 183,2%

соответственно относительно фоновых значений, что было выше прироста соответствующей группы контроля. Через 30 секунд проведения нагрузки прирост скорости сокращения и расслабления миокарда составил 39,2 и 36,7%, что было достоверно выше значений контрольной группы, прирост ЛЖД и МИФС – 83,9 и 119,3%. При введении стрессированным животным фенибута, прирост показателей сократимости, ЛЖД и МИФС на 5 секунде изометрической нагрузки составил 52,3; 45,3; 55,5 и 97,3% относительно исхода, а на 30 секунде – 36,4; 26,7; 35,0 и 53,9% соответственно (Таблица 5).

В группе животных, получавших L-NAME, на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты, прирост $+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$ по отношению к фоновым значениям составил 22,4 и 18,2%, что было значительно ниже по сравнению с контрольной группой стрессированных животных, прирост ЛЖД и МИФС составил 27,0 и 36,1%. К 30 секунде работы сердца в изометрическом режиме прирост скорости сокращения и расслабления миокарда составил -0,1 и -9,7%, что также было достоверно ниже группы контроля, прирост ЛЖД и МИФС – 16,5 и 13,1%. При введении соединения РГПУ-238 и L-NAME, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$ и МИФС на 5 секунде проведения нагрузки составил 32,3; 27,8 и 147,8% относительно исходных показателей, что было достоверно выше показателей группы контроля, прирост ЛЖД составил 53,8%. Через 30 секунд окклюзии аорты прирост скорости сокращения и расслабления миокарда и МИФС также оставался повышенным по сравнению с исходом и составил 14,5; 14,0; 104,5%, прирост ЛЖД существенно не отличался от группы сравнения и составил 35,7%. У животных, получавших фенибут и L-NAME, прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 секунде проведения нагрузки составил 26,8; 22,0; 36,3 и 66,5%, а на 30 секунде – 6,3; 5,8; 15,8 и 16,4% соответственно относительно фоновых значений, что достоверно не отличалось от группы животных, получавших L-NAME (Таблица 5).

В результате исследования выявлено, что соединение РГПУ-238 повышает стрессоустойчивость животных и ограничивает повреждающее действие стресса на сердце при блокаде NO-системы.

4.2 Изучение действия соединения РГПУ-238 на функциональные резервы сердца стрессированных животных в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов

Реализация стресс-лимитирующего действия ГАМК-системы осуществляется преимущественно через ГАМК_A-рецепторы, синтез которых увеличивается в коре головного мозга после стрессорных воздействий (Morrow A.L. et al., 1998). Они принимают участие в регуляции синтеза кортикотропин-рилизинг-гормона и развитии адаптивных реакций организма в ответ на стресс-факторы (Пшенникова М.Г., 2000; Gunn B.G. et al., 2015).

Обнаружено, что при проведении пробы на адренореактивность в группе стрессированных животных, получавших блокатор ГАМК_A-рецепторов – бикикулин – прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС был равен 20,7; 19,5; 23,1 и 29,0% соответственно по отношению к исходным данным. При введении стрессированным животным бикикулина и соединения РГПУ-238 прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$ и ЛЖД в сравнении с исходом составил 72,9; 62,1 и 62,2% соответственно, что достоверно превышало значения группы животных, получавших блокатор ГАМК_A-рецепторов, прирост ЧСС практически не отличался и соответствовал 31,7%. В группе животных, получавших фенибут и бикикулин, прирост показателей сократимости и ЛЖД равнялся 54,4; 63,5 и 53,8%, что также превосходило группу животных, получавших блокатор ГАМК_A-рецепторов, прирост ЧСС - 51,6% (Таблица 6).

Таблица 6. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на скорость сокращения (+dP/dt max) и расслабления миокарда (-dP/dt max), ЛЖД, ЧСС и МИФС у стрессированных животных в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов при проведении нагрузочных проб (M±m).

Группы животных	Проба на адренореактивность, %							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		ЧСС	
Интактная	60,4±7,7		62,6±9,6		58,9±8,1		50,9±6,9	
Стресс+физ. р-р	30,5±2,4 [^]		29,8±3,5 [^]		30,4±3,7 [^]		25,6±3,9 [^]	
Стресс+бикукулин	20,7±5,6		19,5±5,3		23,1±4,5		29,0±5,5	
Стресс+бикукулин+РГПУ-238	72,9±8,6 [#]		62,1±9,3 [#]		62,2±9,0		31,7±2,8	
Стресс+бикукулин+фенибут	54,4±5,2 [#]		63,5±6,7 [#]		53,8±4,6		51,6±9,4	
Максимальная изометрическая нагрузка, %								
Группы животных	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	59,7±5,9	45,6±5,9	54,5±5,8	40,1±5,4	95,5±12,2	80,5±12,7	168,7±22,1	133,0±21,7
Стресс+физ. р-р	42,5±4,0	21,3±3,4 [^]	42,4±5,2	17,7±4,6 [^]	60,6±4,5	37,8±5,2 [^]	98,4±7,9 [^]	45,4±4,5 [^]
Стресс+бикукулин	35,9±6,8	18,2±5,0	32,2±6,7	16,8±6,6	56,3±5,8	30,6±7,5	88,4±21,5	38,3±17,6
Стресс+бикукулин+РГПУ-238	83,8±13,1 [#]	55,5±7,7 [#]	81,0±7,9 [#]	56,3±8,9 [#]	149,1±28,7	134,8±27,1 [#]	244,9±52,4	187,3±37,6 [#]
Стресс+бикукулин+фенибут	72,3±5,9 [#]	56,6±4,3 [#]	65,7±3,6 [#]	50,9±3,5 [#]	85,4±7,1	72,1±5,6	154,3±9,9	110,3±11,8

Примечание:

[^] - изменения достоверны относительно интактной группы при p<0,05 (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна);

[#] - изменения достоверны относительно группы стрессированных животных, получавших бикукулин, при p<0,05 (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

При проведении максимальной изометрической нагрузки в группе животных, получавших бикикулин, на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС составил 35,9; 32,2; 56,3 и 88,4% соответственно по сравнению с фоновыми значениями. На 30 секунде проведения нагрузки прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил 18,2; 16,8; 30,6 и 38,3% соответственно. При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным, получавшим бикикулин, прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД на 5 секунде окклюзии аорты составил 83,8; 81,0 и 149,1% относительно исхода, что было достоверно выше значений соответствующей контрольной группы, прирост МИФС тоже был выше и составил 244,9%. На 30 секунде работы сердца в изометрическом режиме прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД оставался значительно выше группы контроля и составил 55,5 56,3 и 134,8% соответственно, МИФС – 187,3%. У животных, получавших фенибут и бикикулин, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда на 5 секунде проведения изометрической нагрузки составил 72,3 и 65,7%, что было достоверно выше по сравнению с контрольной группой, прирост ЛЖД и МИФС составил 85,4 и 154,3% соответственно в сравнении с исходными показателями. Через 30 секунд окклюзии восходящей части дуги аорты прирост $+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$ составил 56,6 и 50,9%, что было выше значений соответствующей группы сравнения, ЛЖД и МИФС – 72,1 и 110,3% (Таблица 6).

Таким образом, исследуемое соединение способно повышать ино- и хронотропные резервы сердца стрессированных животных в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов.

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЯ РГПУ-238 У СТРЕССИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

5.1 Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на функциональные резервы сердца крыс-самок в возрасте 6, 12 и 24 месяцев в условиях острого иммобилизационно-болевого стрессирования

Известно, что при старении морфофункциональные изменения сердечно-сосудистой системы, энергетического обмена и нейро-гуморальной регуляции работы сердца приводят к развитию сердечно-сосудистых заболеваний (Коркушко О.В. и др., 2012). По результатам многочисленных исследований установлено, что с возрастом снижается сократительная способность сердца, а также способность оптимально реагировать на стрессогенные воздействия, что приводит к повышению чувствительности сердца к действию стрессорных факторов (Lakatta E.G. et al., 2003). В связи с вышесказанным, представлялось целесообразным исследовать влияние нового производного глутаминовой кислоты – соединения РГПУ-238 – на ино- и хронотропные резервы сердца у животных разных возрастных групп в условиях острого иммобилизационно-болевого стрессирования.

В результате исследования было обнаружено, что у интактных животных, возраст которых составил 6 месяцев, на 20-й секунде проведения нагрузки объемом прирост показателей сократимости миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС составил 58,7; 54,4; 47,9 и 6,9% соответственно по сравнению с исходными значениями. У животных, подвергшихся 24-х часовому стрессорному воздействию, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС на 20-й секунде был 31,4 ($p<0,05$); 29,0 ($p<0,05$); 29,0 и -5,5%, что было

значительно ниже по сравнению с группой животных положительного контроля (Таблица 7).

В группе животных, получавших соединение РГПУ-238, при проведении нагрузки объемом прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС на 20 секунде составил относительно исходных показателей 48,8; 33,6; 19,2 и 6,7% соответственно, что достоверно не отличалось от контрольной группы стрессированных животных. При введении стрессированным животным препарата сравнения – фенибута прирост показателей сократимости, ЛЖД и ЧСС тоже существенно не отличался от группы контроля и составил 50,3; 29,8; 31,8 и 4,8% соответственно (Таблица 7).

В условиях стимуляции адренорецепторов сердца прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС в группе интактных животных (возраст - 6 месяцев) на 20 секунде составил 94,0; 69,6; 74,1 и 21,9% соответственно по сравнению с исходными значениями. У стрессированных животных прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 38,7 ($p < 0,05$); 31,0; 31,3 и 39,9% соответственно, что было несколько ниже значений группы положительного контроля (Таблица 7).

При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным прирост показателей сократимости, ЛЖД и ЧСС в ответ на нагрузку адреналином составил 44,3; 41,3; 43,6 и 43,7% соответственно относительно фоновых значений, что было немного выше по сравнению с группой контроля. В группе животных, получавших фенибут, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС составил 46,4; 25,6; 48,4 и 28,8% соответственно (Таблица 7).

Таблица 7. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на скорость сокращения (+dP/dt max) и расслабления миокарда (-dP/dt max), ЛЖД, ЧСС и МИФС у стрессированных животных разного возраста в условиях острого иммобилизационно-болевого стрессирования при проведении нагрузочных проб ($M \pm m$).

Самки в возрасте 6 месяцев								
Группы животных	Нагрузка объемом, % прироста				Проба на адренореактивность, % прироста			
	+dP/dt max	-dP/dt max	ЛЖД	ЧСС	+dP/dt max	-dP/dt max	ЛЖД	ЧСС
Интактная	58,7±10,3	54,4±3,3	47,9±4,2	6,9±4,8	94,0±8,6	69,6±11,5	74,1±12,0	21,9±5,3
Стресс+физ. р-р	31,4±6,1*	29,0±7,7*	30,8±6,7	-5,5±2,3	38,7±5,3*	31,0±8,0	31,3±7,2	39,9±6,3
Стресс+РГПУ-238	48,8±6,0	33,6±8,2	19,2±6,6	6,7±5,2	44,3±4,0	41,3±5,5	43,6±6,3	43,7±11,9
Стресс+фенибут	50,3±6,2	29,8±7,2	31,8±11,4	4,8±2,7	46,4±6,1	25,6±3,9	48,4±9,7	28,8±9,3
Группы животных	Максимальная изометрическая нагрузка, % прироста							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	90,3±6,1	57,9±3,4	87,5±8,2	44,0±4,6	161,6±17,5	146,4±20,0	296,2±61,8	187,1±41,1
Стресс+физ. р-р	61,6±9,0	26,5±6,5*	49,6±8,3*	7,9±1,6	91,5±7,7*	59,9±5,2*	157,6±20,1	82,1±11,8
Стресс+РГПУ-238	75,1±8,3	40,8±6,4	52,5±7,8	11,6±4,6	110,3±7,2	57,9±5,8	153,6±13,0	55,3±10,3
Стресс+фенибут	56,0±5,0	34,8±4,2	47,5±8,6	9,7±2,9	107,8±8,3	77,8±4,4	206,5±20,0	113,8±13,9

Продолжение таблицы 7.

Самки в возрасте 12 месяцев								
Группы животных	Нагрузка объемом, % прироста				Проба на адренореактивность, % прироста			
	+dP/dt max	-dP/dt max	ЛЖД	ЧСС	+dP/dt max	-dP/dt max	ЛЖД	ЧСС
Интактная	52,1±6,9	59,0±7,6	39,7±8,5 [^]	10,9±8,8	69,9±6,8	66,1±6,7	59,8±8,0	37,0±9,7
Стресс+физ. р-р	31,7±3,4 [*]	44,3±10,7 [*]	19,8±9,6	7,3±6,4	32,3±4,2 [*]	25,6±2,9 [*]	21,4±3,9 [*]	31,3±8,0
Стресс+РГПУ-238	70,0±6,4 ^{#^}	44,9±9,3	23,0±4,9	6,2±1,0	68,2±1,2 ^{#^}	68,2±4,3 ^{#^}	55,9±6,7 [#]	17,2±5,6
Стресс+фенибут	57,4±7,5	43,5±8,4	32,0±7,9	9,5±4,8	70,9±9,8 ^{#^}	57,7±9,5 ^{#^}	60,2±5,6 [#]	34,8±17,2
Группы животных	Максимальная изометрическая нагрузка, % прироста							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	88,3±9,3	56,3±6,7	62,6±10,7	16,8±6,9 [^]	124,7±18,7 [^]	102,7±14,4 [^]	192,8±35,6	116,3±18,1 [^]
Стресс+физ. р-р	44,6±3,2 [*]	24,4±4,3 [*]	44,4±4,1	14,9±5,3	89,9±10,5	65,4±14,8	145,2±9,8	74,0±15,2
Стресс+РГПУ-238	69,3±3,8 [#]	48,3±2,9 [#]	50,7±6,0	22,2±7,1 [^]	102,2±15,7	61,0±11,9	147,7±24,2	61,4±17,2 [^]
Стресс+фенибут	68,5±6,9 [#]	41,8±7,6	66,0±9,6	21,6±8,0	102,7±17,3	71,4±14,2	179,2±33,2	76,2±17,9

Продолжение таблицы 7.

Самки в возрасте 24 месяцев								
Группы животных	Нагрузка объемом, % прироста				Проба на адренореактивность, % прироста			
	+dP/dt max	-dP/dt max	ЛЖД	ЧСС	+dP/dt max	-dP/dt max	ЛЖД	ЧСС
Интактная	35,3±8,2 ^{^&}	35,9±11,5 [^] &	37,9±5,6 [^]	8,9±5,0	79,7±6,0 [^]	44,4±7,9 [^]	33,8±5,8 [^]	39,7±5,1
Стресс+физ. р-р	9,1±1,6 ^{*^}	10,2±2,4 [^]	8,5±5,0 ^{*^}	0,3±2,1	13,9±2,1 ^{*^}	19,7±5,9 [^]	12,5±2,3 [^]	15,1±7,2
Стресс+РГПУ-238	79,2±6,5 ^{#^}	64,5±5,1 ^{#^}	51,6±6,6 [#]	22,9±7,8 ^{#^&}	65,0±6,9 ^{#^}	50,0±6,1 ^{#^}	61,4±8,3 [#]	22,3±8,3
Стресс+фенибут	51,7±8,5 [#]	57,1±9,0 [#]	36,6±9,3 [#]	16,7±6,2 [#]	48,1±8,3 [#]	46,5±7,6 [#]	58,5±9,2 [#]	39,0±7,9
Группы животных	Максимальная изометрическая нагрузка, % прироста							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	70,3±5,3 ^{^&}	43,3±3,7 [^]	61,1±7,0 [^]	23,1±5,8 [^]	102,0±8,1 [^]	78,6±7,4 [^]	173,2±5,6 [^]	108,0±7,9 [^]
Стресс+физ. р-р	40,7±4,7 [*]	8,5±1,8 ^{*^&}	33,5±6,0	1,4±3,3 ^{*^&}	42,7±3,5 ^{*^&}	3,8±3,5 ^{*^&}	85,6±12,0 ^{^&}	8,5±7,7 ^{*^&}
Стресс+РГПУ-238	62,5±4,5 [#]	40,4±4,3 [#]	42,5±5,8	23,5±6,2 ^{#^}	132,3±15,4 [^]	122,0±14,3 ^{#^} &	228,0±23,2 [#]	191,5±17,1 ^{#^&}
Стресс+фенибут	69,8±5,4 [#]	40,1±4,2 [#]	57,6±7,9 [#]	22,6±5,6 [#]	73,9±4,4 [^]	49,7±8,1 [^]	129,7±8,1 [^]	58,4±6,2 [^]

Примечание:

* - изменения достоверны относительно интактной группы;

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных;

^ - изменения достоверны относительно аналогичной группы животных в возрасте 6 месяцев;

& - изменения достоверны относительно аналогичной группы животных в возрасте 1 года при $p < 0,05$ (критерий Крускала – Уоллиса, с пост-хоком Данна).

Окклюзия восходящей части дуги аорты у интактных животных (возраст - 6 месяцев) приводила к увеличению показателей сократимости ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и максимальной интенсивности функционирования структур относительно исходных значений на 5 секунде проведения нагрузки на 90,3; 87,5; 161,6 и 296,2%, на 30 секунде – на 57,9; 44,0; 146,4 и 187,1% соответственно по сравнению с исходными значениями. В группе стрессированных животных, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил на 5 секунде окклюзии аорты 61,6; 49,6 ($p<0,05$); 91,5 ($p<0,05$) и 157,6%, а на 30 секунде – 26,5 ($p<0,05$); 7,9; 59,9 ($p<0,05$) и 82,1% соответственно, что было ниже значений группы положительного контроля. При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным прирост показателей сократимости, ЛЖД и МИФС относительно фоновых значений на 5 секунде проведения нагрузки составил 75,1; 52,5; 110,3 и 153,6%, на 30 секунде – 40,8; 11,6; 57,9 и 55,3% соответственно. В группе животных, получавших фенибут, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС составил на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты 56,0; 47,5; 107,8 и 206,5%, а на 30 секунде – 34,8; 9,7; 77,8 и 113,8% соответственно (Таблица 7).

У интактных животных, возраст которых составил 12 месяцев, при проведении нагрузки объемом показатели сократимости миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС повысились относительно исходных значений на 52,1; 59,0; 39,7 и 10,9% соответственно. У стрессированных животных того же возраста прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС составил 31,7 ($p<0,05$); 44,3 ($p<0,05$); 19,8 и 7,3%, что было ниже показателей группы положительного контроля и существенно не отличался от такового при сравнении с 6 месячными крысами. В группе животных, получавших соединение РГПУ-238 прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС в ответ на нагрузку объемом равнялся 70,0 ($p<0,05$); 44,9; 23,0 и 6,2%, соответственно по отношению к исходу, при этом скорость сокращения миокарда была выше по сравнению с показателем аналогичной группы животных в возрасте 6 месяцев. При введении стрессированным животным фенибута прирост показателей сократимости

миокарда, ЛЖД и ЧСС составил 57,4; 43,5; 32,0 и 9,5%, что достоверно не отличалось от показателей группы контроля и от животных аналогичной группы 6 месячного возраста (Таблица 7).

При проведении нагрузки адреналином у интактных животных (возраст – 12 месяцев) прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС по отношению к исходным значениям составил 69,9; 66,1; 59,8 и 37,0%, что существенно не отличалось от такового 6 месячных крыс. У животных, подвергшихся 24-х часовому стрессированию, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 32,3 ($p<0,05$); 25,6 ($p<0,05$); 21,4 ($p<0,05$) и 31,3%, что было существенно ниже значений группы положительного контроля и достоверно не отличалось от показателей 6 месячных крыс. При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и ЧСС при проведении пробы на адренореактивность составил 68,2 ($p<0,05$); 68,2 ($p<0,05$); 55,9 ($p<0,05$) и 17,2% соответственно относительно исхода, что было значительно выше значений контрольной группы, а прирост $+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$ достоверно превосходил показатели такой же группы животных 6 месячного возраста. В группе животных, получавших фенибут прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 70,9 ($p<0,05$); 57,7 ($p<0,05$); 60,2 ($p<0,05$) и 34,8%, что было также выше показателей группы контроля, а прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда статистически значимо превосходил таковой аналогичной группы животных в возрасте 6 месяцев (Таблица 7).

В условиях максимальной изометрической нагрузки у интактных животных (возраст – 12 месяцев) на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС по сравнению с исходными значениями составил 88,3; 62,6; 124,7 и 192,8%, а на 30 секунде – 56,3; 16,8; 102,7 и 116,3% соответственно, что было ниже по сравнению с аналогичной группой 6 месячных крыс. В группе стрессированных животных прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС на 5 секунде составил 44,6 ($p<0,05$); 44,4; 89,9 и 145,2%, на 30 секунде – 24,4 ($p<0,05$); 14,9; 65,4 и 74,0% соответственно, что было ниже значений группы положительного контроля и

достоверно не отличалось от таковых значений животных в возрасте 6 месяцев. У стрессированных животных, получавших исследуемое соединение, прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 секунде проведения изометрической нагрузки составил 69,3 ($p<0,05$); 50,7; 102,2 и 147,7%, а через 30 секунд окклюзии аорты – 48,3 ($p<0,05$); 22,2; 61,0 и 61,4% соответственно относительно исходных параметров, что было выше относительно значений группы контроля, а прирост скорости расслабления и МИФС на 30 с превышал таковой аналогичной группы крыс в возрасте 6 месяцев. В группе животных, получавших фенибут, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС через 5 секунд окклюзии аорты составил 68,5 ($p<0,05$); 66,0; 102,7 и 179,2%, а через 30 секунд – 41,8; 21,6; 71,4 и 76,2%, соответственно, что было выше по сравнению с контрольной группой и существенно не отличалось от аналогичной группы 6 месячного возраста (Таблица 7).

В группе 24-х месячных интактных животных на 20-й секунде проведения нагрузки объемом прирост показателей сократимости миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС составил 35,3; 35,9; 37,9 и 8,9% соответственно по сравнению с исходными значениями, что статистически значимо было ниже такового аналогичной группы в возрасте 6 и 12 месяцев. У животных, подвергшихся 24-х часовому стрессорному воздействию, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС на 20-й секунде составил 9,1 ($p<0,05$); 10,2; 8,5 ($p<0,05$) и 0,3%, что было ниже по сравнению с группой животных положительного контроля и аналогичной группы крыс 6 месячного возраста. В группе животных, получавших соединение РГПУ-238, при проведении нагрузки объемом прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС на 20 секунде составил 79,2 ($p<0,05$); 64,5 ($p<0,05$); 51,6 ($p<0,05$) и 22,9% ($p<0,05$) соответственно относительно исхода, что было достоверно выше по сравнению с контрольной группой стрессированных животных и аналогичной группы 6 месячного возраста. При введении стрессированному животному фенибута прирост показателей сократимости, ЛЖД и ЧСС составил 51,7 ($p<0,05$); 57,1 ($p<0,05$); 36,6 ($p<0,05$) и 16,7% ($p<0,05$) соответственно, что так же было выше значений группы

контроля, однако существенных различий с аналогичной группой возраста 6 и 12 месяцев выявлено не было (Таблица 7).

В условиях стимуляции адренорецепторов сердца прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС в группе интактных животных (возраст – 24 месяца) на 20 секунде составил 79,7; 44,4; 33,8 и 39,7% соответственно по сравнению с исходными значениями, что было ниже относительно значений аналогичной группы крыс в возрасте 6 месяцев. У стрессированных животных 24 месячного возраста прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 13,9 ($p<0,05$); 19,7; 12,5 и 15,1% соответственно, что было немного ниже значений группы положительного контроля и аналогичной группы крыс в возрасте 6 месяцев (Таблица 7).

При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным прирост показателей сократимости, ЛЖД и ЧСС в ответ на нагрузку адреналином на 20 секунде составил 65,0 ($p<0,05$); 50,0 ($p<0,05$); 61,4 ($p<0,05$) и 22,3% соответственно относительно исходных значений, что было значительно выше показателей соответствующей группы контроля и достоверно отличалось от аналогичной группы 6 месячных крыс. В группе животных, получавших фенибут, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС составил 48,1 ($p<0,05$); 46,5 ($p<0,05$); 58,5 ($p<0,05$) и 39,0% соответственно, что также было выше по сравнению с контрольной группой, существенно не отличалось от показателей такой же группы животных в возрасте 6 и 12 месяцев (Таблица 7).

Окклюзия восходящей части дуги аорты у 24-х месячных интактных животных приводила к увеличению показателей сократимости ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и максимальной интенсивности функционирования структур (МИФС) относительно исходных значений на 5 секунде проведения нагрузки на 70,3; 61,1; 102,0 и 173,2%, на 30 секунде – на 43,3; 23,1; 78,6 и 108,0% соответственно, что было ниже по сравнению с показателями аналогичной группы крыс в возрасте 6 месяцев. В группе стрессированных животных, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС составил на 5 секунде окклюзии аорты 40,7 ($p<0,05$); 33,5; 42,7 ($p<0,05$) и 85,6%, а на 30 секунде – 8,5 ($p<0,05$); 1,4 ($p<0,05$);

3,8 ($p<0,05$) и 8,5 ($p<0,05$) % соответственно, что было ниже значений группы положительного контроля и аналогичных групп в возрасте 6 и 12 месяцев. При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным того же возраста прирост показателей сократимости, ЛЖД и МИФС на 5 секунде проведения нагрузки составил 62,5 ($p<0,05$); 42,5; 132,3 и 228,0 ($p<0,05$) %, на 30 секунде – 40,4 ($p<0,05$); 23,5 ($p<0,05$); 122,0 ($p<0,05$) и 191,5% ($p<0,05$) соответственно относительно исходных параметров, что было значительно ниже по сравнению с контролем и статистически значимо выше по сравнению с аналогичной группой 6 месячного возраста. В группе животных, получавших фенибут, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС составил на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты 69,8 ($p<0,05$); 57,6 ($p<0,05$); 73,9 и 129,7%, а на 30 секунде – 40,1 ($p<0,05$); 22,6 ($p<0,05$); 49,7 и 58,4% соответственно, что также было выше значений группы контроля и аналогичной группы 6 месячного возраста (Таблица 7).

В результате исследования обнаружено зависимое от возраста снижение инотропной функции сердца у животных интактных групп. Острое иммобилизационно-болевое стрессорное воздействие вызывало снижение инотропных резервов сердца, наиболее выраженное у 24 месячных крыс. Введение соединения РГПУ-238 вызывало сохранение функциональных резервов сердца на более высоком уровне особенно существенно у животных в возрасте 24 месяцев. В группах стрессированных животных, получавших фенибут, исследуемые показатели повышались в равной степени у 6, 12 и 24 месячных самок.

5.2 Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на функциональные резервы сердца 12 и 24 месячных крыс-самцов при хроническом стрессорном воздействии

Известно, что длительное стрессорное воздействие приводит к депрессии сократительной функции миокарда, снижению функциональных резервов сердца (Перфилова В.Н. и др., 2010). За счет патологического изменения кардиомиоцитов, заключающихся в нарушении целостности клеточных мембран и митохондрий, снижении запаса гликогена, появлении жировых капель в саркоплазме, возникновении признаков кальциевой перегрузки (Акопян Е.С., 2003).

Эксперименты проведены на 80 белых нелинейных крысах-самцах предварительно рандомизированных по возрасту и массе. Животные были разделены на 8 групп по 10 в каждой: две интактные группы (положительный контроль) разного возраста (12 и 24 месяца), две группы негативного контроля (возраст 12 и 24 месяца), получавшие за 30 минут до стрессирования физ. р-р внутривенно в течение 7 дней, четыре опытные группы – 2 группы животных (возраст - 12 и 24 месяца), которым за 30 минут до стрессирования вводили соединение РГПУ-238 в дозе 28,7 мг/кг, 2 группы животных разного возраста, получавших препарат сравнения фенибут (25 мг/кг) в аналогичном контрольным группам режиме.

В результате исследования было обнаружено, что у интактных животных, возраст которых составил 12 месяцев, на 20-й секунде проведения нагрузки объемом прирост показателей сократимости миокарда ($+dP/dt \max$ и $-dP/dt \max$), ЛЖД и ЧСС составил 56,5; 32,7; 49,4 и 3,1% соответственно по сравнению с исходными значениями. В группе животных того же возраста, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию, прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС на 20-й секунде составил 21,6 ($p<0,05$); 10,3 ($p<0,05$); 22,6

($p < 0,05$) и -5,8%, что было значительно ниже по сравнению с интактной группой (Таблица 8).

У 12-ти месячных животных, получавших соединение РГПУ-238, при проведении нагрузки объемом прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС на 20 секунде составил 41,6 ($p < 0,05$); 34,1 ($p < 0,05$); 53,4 и 4,6% соответственно, что было выше по сравнению с контрольной группой стрессированных животных. В группе животных, получавших препарат сравнения – фенибут, прирост показателей сократимости, ЛЖД и ЧСС составил 40,2 ($p < 0,05$); 28,7 ($p < 0,05$); 35,9 и 5,2% соответственно (Таблица 8).

При проведении максимальной изометрической нагрузки прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС в группе интактных животных 12-ти месячного возраста на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты составил 73,6; 76,2; 82,3 и 189,6%, а на 30 секунде – 53,5; 43,6; 64,3 и 105,9% соответственно по сравнению с исходными значениями. У стрессированных животных прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС через 5 секунд проведения нагрузки составил 46,4; 43,7; 58,0 и 120,8%, а через 30 секунд – 24,3 ($p < 0,05$); 19,5 ($p < 0,05$); 30,3 и 25,8% ($p < 0,05$) соответственно, что было ниже значений группы положительного контроля (Таблица 8).

В группе животных (возраст – 12 месяцев), получавших соединение РГПУ-238, прирост показателей сократимости, ЛЖД и МИФС на 5 секунде работы сердца в изометрическом режиме составил 73,0; 57,5; 108,7 и 204,0%, а на 30 - 55,6 ($p < 0,05$); 39,1; 81,3 и 120,2% ($p < 0,05$) соответственно, что было значительно выше по сравнению с группой контроля. При введении фенибута стрессированным животным, прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС через 5 секунд окклюзии аорты составил 66,7; 44,7; 90,4 и 165,6%, а через 30 секунд – 47,8 ($p < 0,05$); 24,1; 68,0 и 94,9% соответственно (Таблица 8).

Таблица 8. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на скорость сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, ЧСС и МИФС у стрессированных животных разного возраста при проведении нагрузочных проб ($M \pm m$).

Возраст 12 месяцев								
Группы животных	Нагрузка объемом, %							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		ЧСС	
Интактная	56,5±11,3		32,7±4,2		49,4±6,0		3,1±4,1	
Стресс+физ. р-р	21,6±4,2 [*]		10,3±2,3 [*]		22,6±5,8 [*]		-5,8±5,2	
Стресс+ РГПУ-238	41,6±2,5 [#]		34,1±6,7 [#]		53,4±7,3		4,6±1,5	
Стресс+ фенибут	40,2±4,5 [#]		28,7±2,6 [#]		35,9±7,1		5,2±2,9	
Максимальная изометрическая нагрузка, %								
Группы животных	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	73,6±8,3	53,5±6,4	76,2±11,1	43,6±4,6	82,3±8,1	64,3±6,3	189,6±24,6	105,9±17,3
Стресс+физ. р-р	46,4±4,6	24,3±4,9 [*]	43,7±6,9	19,5±6,8 [*]	58,0±5,6	30,3±9,4	120,8±20,0 [*]	25,8±9,3 [*]
Стресс+ РГПУ-238	73,0±6,1	55,6±4,2 [#]	57,5±3,5	39,1±1,8	108,7±10,0	81,3±8,2	204,0±11,9	120,2±13,0 [#]
Стресс+ фенибут	66,7±6,8	47,8±5,1 [#]	44,7±5,5	24,1±2,7	90,4±8,7	68,0±9,3	165,6±21,3	94,9±15,4

Продолжение таблицы 8.

Возраст 24 месяца								
Группы животных животных	Нагрузка объемом, %							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		ЧСС	
Интактная	45,6±7,4		25,7±4,3		39,4±9,6		-1,2±3,1	
Стресс+физ. р-р	18,0±3,4 [*]		5,6±2,7 [*]		10,4±2,0 [*]		-0,9±1,5	
Стресс+ РГПУ-238	42,4±6,4 [#]		37,8±6,0 [#]		38,7±4,4 [#]		21,5±5,0 ^{#^}	
Стресс+ фенибут	42,7±6,4 [#]		30,5±7,7 [#]		40,5±10,8 [#]		1,2±5,1	
Группы животных	Максимальная изометрическая нагрузка, %							
	+dP/dt max		-dP/dt max		ЛЖД		МИФС	
	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная	60,3±7,4	37,6±5,5	51,6±5,5	27,4±5,1	122,1±15,3	87,6±11,6	217,6±34,1	102,8±19,8
Стресс+физ. р-р	32,8±4,8 [*]	11,4±3,6 [*]	26,7±3,3	-0,9±4,3 [*]	52,6±6,0 [*]	20,4±7,2 [*]	76,7±7,4 [*]	11,3±8,9 [*]
Стресс+ РГПУ-238	56,7±6,4 [#]	32,6±5,1 [#]	46,3±6,4	23,1±4,3 [#]	103,5±9,7 [#]	73,3±9,5 [#]	200,9±24,5 [#]	89,8±14,8 [#]
Стресс+ фенибут	45,5±3,0	23,4±2,4	43,5±4,9	26,1±4,6 [#]	90,7±10,2	67,2±7,4 [#]	150,3±11,0	74,3±8,9 [#]

Примечание:

* - изменения достоверны относительно интактной группы;

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных;

^ - изменения достоверны относительно группы животных, получавших фенибут, при $p < 0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

При проведении нагрузки объемом у 24-х месячных интактных животных на 20 секунде прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС по отношению к исходным значениям составил 45,6; 25,7; 39,4 и -1,2%. У животных того же возраста, подвергшихся хроническому стрессированию, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 18,0 ($p<0,05$); 5,6 ($p<0,05$); 10,4 ($p<0,05$) и -0,9%, что было существенно ниже значений группы положительного контроля. При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и ЧСС на 20 секунде составил 42,4 ($p<0,05$); 37,8 ($p<0,05$); 38,7 ($p<0,05$) и 21,5% ($p<0,05$) соответственно, что было достоверно выше по сравнению с соответствующим контролем. В группе животных, получавших фенибут, прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и ЧСС составил 42,7 ($p<0,05$); 30,5 ($p<0,05$); 40,5 ($p<0,05$) и 1,2%, что также было выше показателей группы контроля (Таблица 8).

В условиях максимальной изометрической нагрузки у интактных животных в возрасте 24 месяца на 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС составил 60,3; 51,6; 122,1 и 217,6% соответственно по сравнению с исходными значениями, а через 30 секунд проведения нагрузки прирост составил 37,6; 27,4; 87,6 и 102,8% соответственно. В группе стрессированных животных 24-х месячного возраста прирост показателей $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС на 5 секунде составил 32,8 ($p<0,05$); 26,7; 52,6 ($p<0,05$) и 76,7% ($p<0,05$), на 30 секунде – 11,4 ($p<0,05$); -0,9 ($p<0,05$); 20,4 ($p<0,05$) и 11,3% ($p<0,05$) соответственно, что было достоверно ниже по сравнению с интактной группой. В группе животных того же возраста, получавших исследуемое соединение, прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 секунде проведения изометрической нагрузки составил 56,7 ($p<0,05$); 46,3; 103,5 ($p<0,05$) и 200,9% ($p<0,05$), а через 30 секунд окклюзии восходящей части дуги аорты – 32,6 ($p<0,05$); 23,1 ($p<0,05$); 73,3 ($p<0,05$) и 89,8% ($p<0,05$) соответственно, что было значительно выше показателей соответствующей группы контроля. В группе животных, получавших фенибут, прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС через 5 секунд окклюзии

аорты составил 45,5; 43,5; 90,7 и 150,3%, а через 30 секунд – 23,4; 26,1 ($p<0,05$); 67,2 ($p<0,05$) и 74,3% ($p<0,05$) соответственно, что также превышало прирост контрольной группы стрессированных животных (Таблица 8).

Таким образом, производное глутаминовой кислоты – соединение РГПУ-238 – ограничивает повреждающее действие стресса на миокард, о чем свидетельствуют высокие показатели прироста $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД и МИФС при проведении нагрузочных тестов, наиболее существенные у 24 месячных крыс.

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

6.1 Оценка антиоксидантных и антигипоксических свойств соединения РГПУ-238 при стрессорном повреждении миокарда

В результате стрессорного воздействия избыток катехоламинов вызывает чрезмерную интенсификацию процессов перекисного окисления липидов (Мальцев А.Н. и др., 2010; Pal R. et al., 2011; Pertsov S.S. et al., 2011; Menabde K.O. et al., 2011). Основным продуктом окислительного стресса являются активные формы кислорода (АФК), выступающие в качестве основных медиаторов клеточного повреждения вследствие их разрушающего действия на такие биологически важные молекулы, как липиды, белки, нуклеиновые кислоты (Меньшикова Е.Б. и др., 2006; Луцак В.И., 2007). Супероксидный и гидроксильный радикалы способны инициировать процессы перекисного окисления в эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, тем самым увеличивая проницаемость клеточных мембран для кальция, что в конечном итоге приводит к повреждению митохондрий, нарушению мембранного транспорта и гибели клеток (Меньшикова Е.Б. и др., 2008; Куликов Ю.В., 2009; Siwik D.A. et al., 2001).

В этой связи, представлялось целесообразным изучение влияния нового производного глутаминовой кислоты на выраженность процессов ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов у животных, подвергшихся 24-х часовому иммобилизационно-болевному стрессорному воздействию.

В результате эксперимента было выявлено, что уровень диеновых конъюгатов (первичных продуктов ПОЛ) у стрессированных животных составил $3,14 \pm 0,18$ D₂₃₃/мг белка, что было на 12,9% ($p < 0,05$) выше, по сравнению с интактной группой, где данный показатель составил $2,78 \pm 0,22$ D₂₃₃/мг белка. При

введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным концентрация ДК была ниже на 20,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой и составила $2,51 \pm 0,30$ D₂₃₃/мг белка. Введение фенибута вызвало незначительное снижение уровня диеновых конъюгатов (на 9,2%) и составило $2,85 \pm 0,12$ D₂₃₃/мг белка (Рисунок 7).

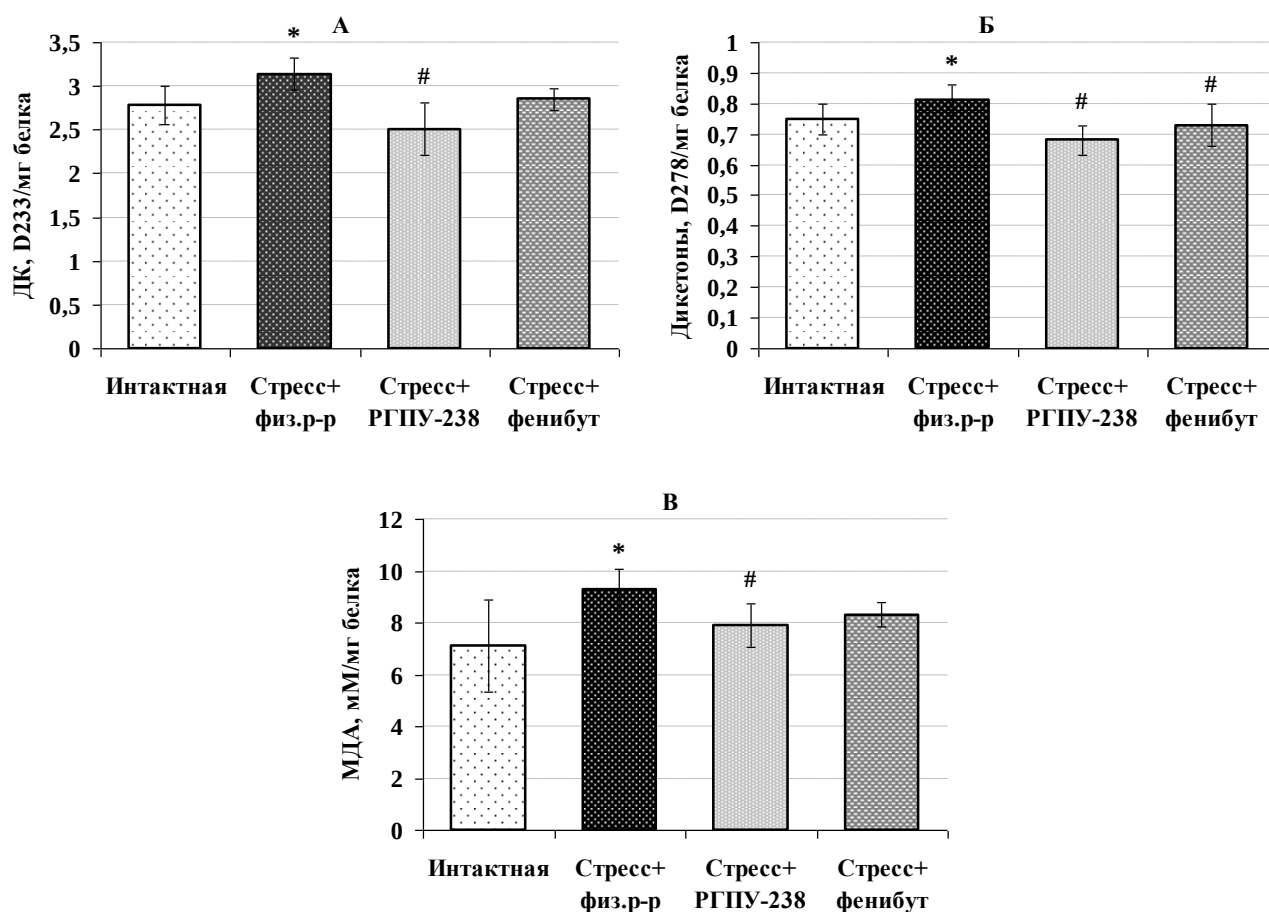


Рисунок 7. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на концентрацию диеновых конъюгатов (А), дикетонов (Б) и малонового диальдегида (В) в митохондриях сердца стрессированных животных

* - изменения достоверны относительно интактной группы (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);
- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

При исследовании уровня дикетонов у интактных животных получено значение $0,75 \pm 0,05$ D₂₇₈/мг белка. В группе животных, подвергшихся

стрессированию, данный параметр составил $0,81 \pm 0,05 D_{278}/\text{мг}$ белка, что было на 8,0% ($p < 0,05$) выше интакта. Введение нового производного глутаминовой кислоты вызвало снижение количества дикетонов на 16,0% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой, значение равнялось $0,68 \pm 0,05 D_{278}/\text{мг}$ белка. В группе стрессированных животных, получавших фенибут, данный показатель составил $0,73 \pm 0,07 D_{278}/\text{мг}$ белка, что также было ниже значения контрольных животных на 9,9% ($p < 0,05$) (Рисунок 7).

Выявлено, что у стрессированных животных повышалась концентрация малонового диальдегида - вторичного продукта ПОЛ и составляла $9,30 \pm 0,79$ мМ/мг белка, в то время как у интактных животных показатель был равен $7,11 \pm 1,79$ мМ/мг белка. Таким образом, концентрация МДА у стрессированных крыс превышала таковую группы контроля на 30,8% ($p < 0,05$). В группе животных, получавших соединение РГПУ-238, концентрация МДА равнялась $7,90 \pm 0,84$ мМ/мг белка, что было на 15,0% ($p < 0,05$) ниже, чем у контрольной группы. Препарат сравнения фенибут вызывал менее выраженное снижение МДА, который составил $8,31 \pm 0,48$ мМ/мг белка, что было на 10,6% ниже по сравнению с группой контроля (Рисунок 7).

Активность антиоксидантной системы оценивали по концентрации ферментов: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы.

Стрессорное воздействие приводило к снижению активности СОД, концентрация которого составила $34,63 \pm 5,33$ у.е./мг белка, что было на 32,4% ($p < 0,05$) ниже значения интактной группы. У стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-238, данный показатель составил $39,57 \pm 5,60$ у.е./мг белка, что было на 14,3% выше группы контроля. У животных, получавших фенибут, активность СОД составила $51,36 \pm 6,17$ у.е./мг белка, что было на 48,3% ($p < 0,05$) выше группы контроля (Рисунок 8).

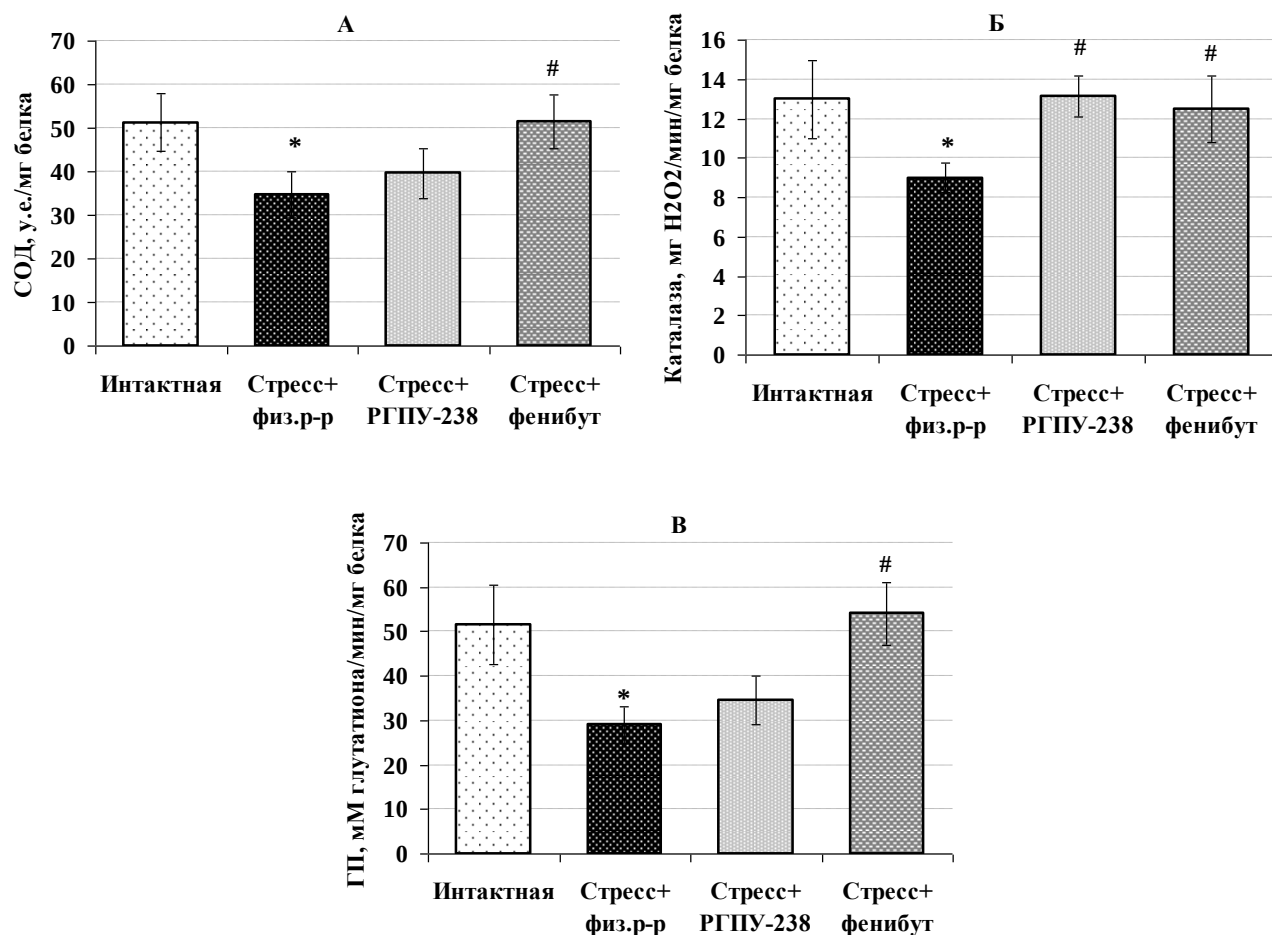


Рисунок 8. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на активность супероксиддисмутазы (А), каталазы (Б) и глутатионпероксидазы (В) в митохондриях сердца стрессированных животных

* - изменения достоверны относительно интактной группы (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);
 # - изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

Установлено, что у животных, подвергшихся острому иммобилизационно-болевому стрессированию, снижалась активность каталазы и равнялась $9,00 \pm 0,74$ мг H₂O₂/мин/мг белка, в то время как в интактной группе показатель составил $12,98 \pm 1,99$ мг H₂O₂/мин/мг белка. Таким образом, активность каталазы у стрессированных крыс снижалась на 30,7% ($p < 0,05$) по сравнению с таковой у интактной группы. У стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-238, активность каталазы равнялась $13,15 \pm 1,04$ мг H₂O₂/мин/мг белка, что было на 46,1% ($p < 0,05$) выше, чем в контрольной группе. Препарат сравнения фенибут

также вызывал повышение активности каталазы, концентрация МДА у данной группы животных составляла $12,49 \pm 1,72$ мг H_2O_2 /мин/мг белка, что было на 38,8% ($p < 0,05$) выше по сравнению с группой контроля (Рисунок 8).

Активность глутатионпероксидазы у стрессированных животных составил $28,96 \pm 4,23$ мМ глутатиона/мин/мг белка, что было на 43,8% ($p < 0,05$) ниже, по сравнению с интактной группой, где данный показатель составил $51,58 \pm 8,96$ мМ глутатиона/мин/мг белка. При введении соединения РГПУ-238 стрессированным животным активность ГП повысилась на 19,3% по сравнению с контрольной группой и составила $34,54 \pm 5,49$ мМ глутатиона/мин/мг белка. Введение фенибута вызвало увеличение активности фермента на 86,6% ($p < 0,05$), что равнялось $54,04 \pm 7,07$ мМ глутатиона/мин/мг белка (Рисунок 8).

Таким образом, при иммобилизационно-болевым стрессорном воздействии наблюдается интенсификация процессов свободнорадикального окисления, на что указывает увеличение продуктов ПОЛ и снижение активности антиоксидантных ферментов. Соединение РГПУ-238 ограничивает процессы ПОЛ, способствуя снижению концентрации их продуктов и повышению активности антиоксидантных ферментов.

Изучение антигипоксического действия соединения РГПУ-238 проводилось на мышах-самцах массой 39 ± 2 г. Исследуемое соединение в дозе 28,7 мг/кг и препарат сравнения - фенибут в дозе 25 мг/кг вводили внутрибрюшинно за 20 мин. до начала эксперимента, контрольной группе животных вводился физ. р-р в эквивалентном объеме.

На модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией было выявлено, что соединение РГПУ-238 увеличивало продолжительность жизни животных по сравнению с контрольной группой и данный эффект был сопоставим с препаратом сравнения (Рисунок 9).

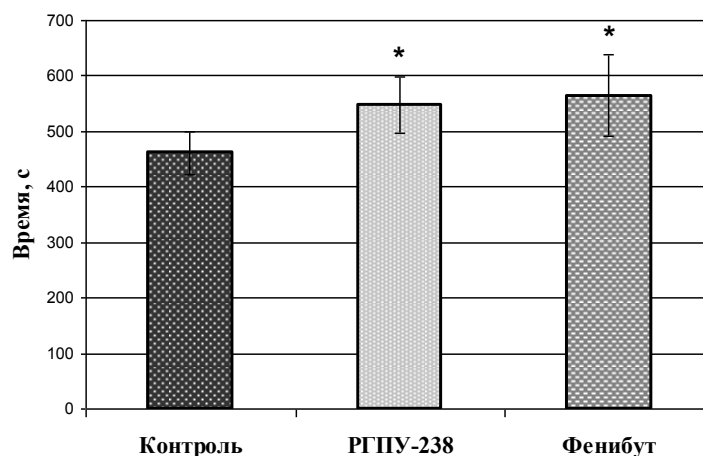


Рисунок 9. Влияние соединения РГПУ-238 на продолжительность жизни животных в условиях гипоксии

* - изменения достоверны относительно контрольной группы при $p < 0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии антигипоксического действия у соединения РГПУ-238.

6.2 Оценка эндотелиопротекторных свойств соединения РГПУ-238 при стрессорном повреждении миокарда

В ответ на действие стрессорного раздражителя происходит выброс норадреналина, активация ПОЛ, повышается уровень АД, что в целом приводит к развитию эндотелиальной дисфункции (Арутюнов Г.П., 2006).

В этой связи было исследовано влияние нового производного глутаминовой кислоты на эндотелий сосудов у животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию. Вазодилатирующая функция эндотелия оценивалась по степени прироста кровотока в средней мозговой артерии в ответ на введение анализаторов: ацетилхолина, нитроглицерина и нитро-L-аргинина.

В группе интактных животных исходный мозговой кровоток (МК) равнялся 4,53 у.е. В ответ на введение ацетилхолина исследуемый показатель увеличился до 5,62 у.е., т.е. прирост составил 23,2% от исходного значения. У

стрессированных животных контрольной группы исходный показатель МК был ниже, чем у интактной и равнялся 3,87 у.е. На введение АЦХ прироста МК практически не было, уровень мозгового кровотока составил 4,14 у.е., что свидетельствует о выраженной дисфункции эндотелия в данной группе (Рисунок 10).

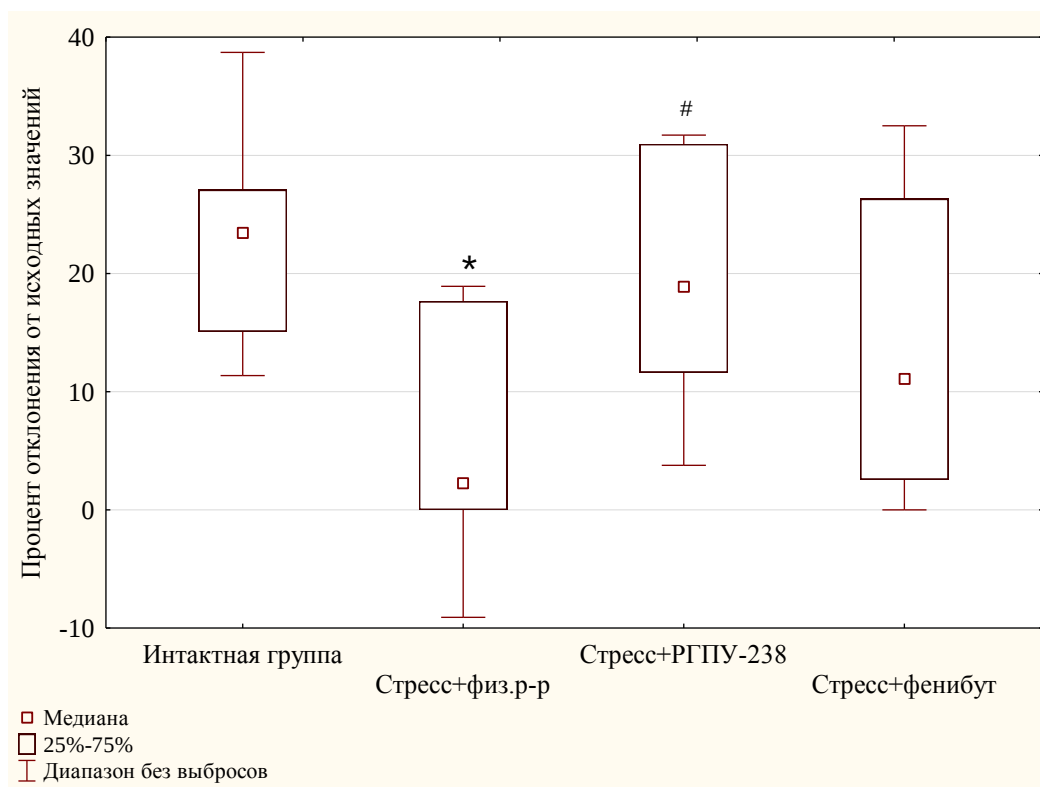


Рисунок 10. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на мозговой кровоток стрессированных животных в условиях введения ацетилхолина

* - изменения достоверны относительно интактной группы;

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p < 0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

В группе стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-238, МК был равен 4,50 у.е., после введения АЦХ увеличился до 5,36 у.е., что равнялось 20,0% ($p < 0,05$) прироста. У животных, получавших препарат сравнения фенибут, величина исходного церебрального кровотока составила 4,06 у.е. Введение АЦХ вызвало повышение показателя максимально до 4,59 у.е., что равнялось 13,3% прироста (Рисунок 10).

При введении ингибитора NO – синтаз - нитро-L-аргинина – интактным животным наблюдалось падение МК с 4,53 до 3,0 у.е., т.е. на 32,9%. В контрольной группе стрессированных животных данный показатель снижался на 22,8% с 3,87 до 3,02 у. е., что было меньше, чем в интактной группе. У стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-238, величина исходного церебрального кровотока составила 4,5 у.е., в ответ на введение нитро-L-аргинина снизился до 2,96 у.е., что равнялось 33,8%. При введении фенибута стрессированному животному исходный МК составил 4,06 у.е., а при введении ингибитора NO-синтаз снизился на 24,4% и был равен 3,05 у.е. (Рисунок 11).

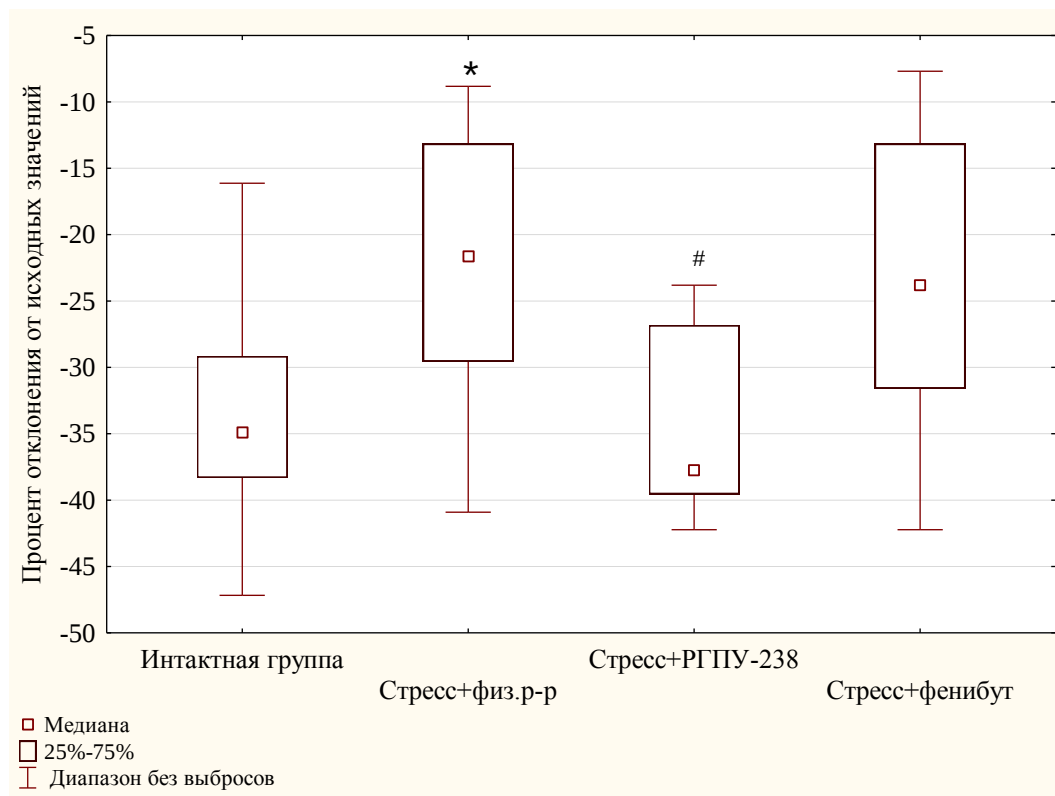


Рисунок 11. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на мозговой кровоток стрессированных животных в условиях введения нитро-L-аргинина

* - изменения достоверны относительно интактной группы;

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p < 0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

Для оценки эндотелийнезависимой дилатации, т.е. чувствительности гладких мышц сосудов к действию вазоактивных агентов, использовался

нитроглицерин. В группе интактных животных исходное значение церебрального кровотока составило 4,53 у.е., в ответ на введение нитроглицерина увеличился на 25,5%, что равнялось 5,64 у.е. У стрессированных животных контрольной группы исходный уровень МК составил 3,87 у.е., введение нитроглицерина повысило кровотоки на 30,9%, что составило 5,03 у.е. (Рисунок 12).

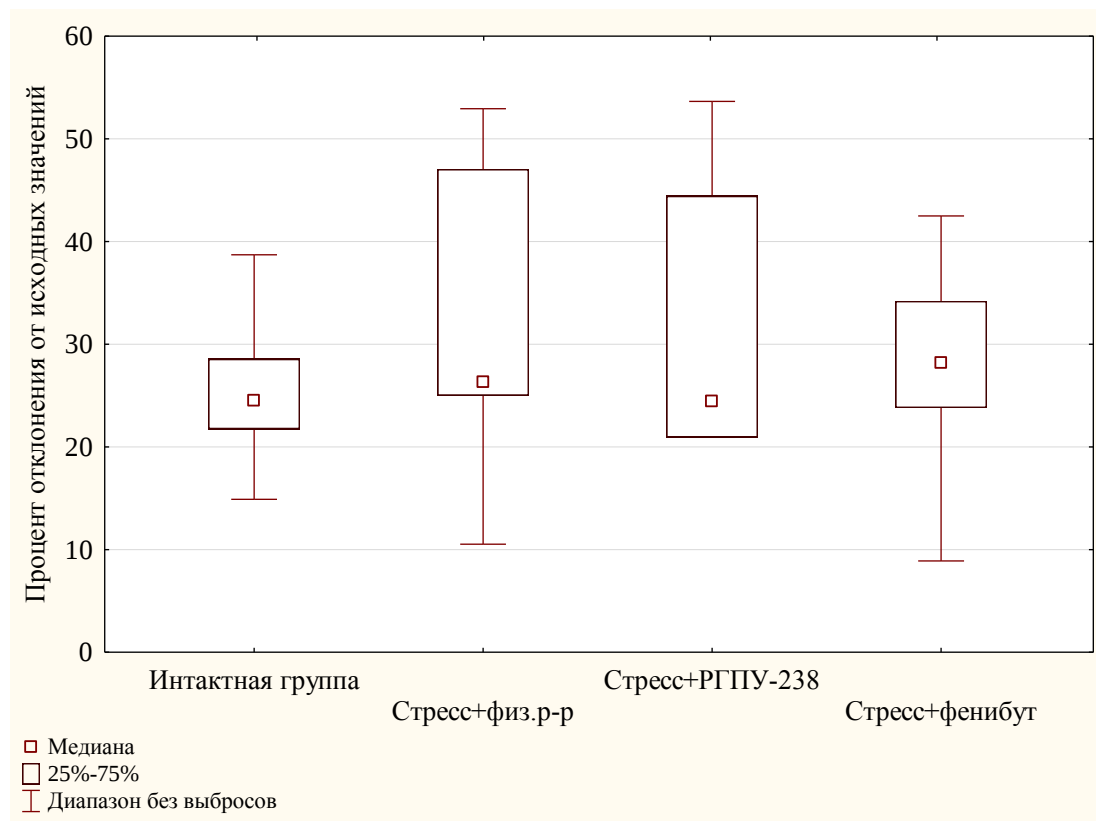


Рисунок 12. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на мозговой кровоток стрессированных животных в условиях введения нитроглицерина

В группе стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-238, МК был равен 4,5 у.е., после введения нитроглицерина увеличился до 5,51 у.е., что составило 24,4% прироста. У стрессированных животных, получавших препарат сравнения фенибут, исходное значение МК равнялось 4,06 у.е., а после введения нитроглицерина прирост составил 27,0%, что равнялось 5,13 у.е. (Рисунок 12).

Таким образом, при проведении пробы с нитроглицерином отмечается практически равное увеличение мозгового кровотока у животных всех групп, что свидетельствует о сохранении у них эндотелийнезависимой вазодилатации (Рисунок 12). Таким образом, хроническое стрессорное воздействие способствует развитию эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствует ослабление реакции сосудов на введение ацетилхолина и нитро-L-аргинина у животных контрольной группы. Соединение РГПУ-238 ограничивает нарушение функции эндотелия при хроническом стрессорном воздействии, проявляющееся более выраженным увеличением МК в ответ на введение АЦХ и снижением при введении нитро-L-аргинина, что свидетельствует о повышении стимулируемой и базальной продукции NO.

6.3 Влияние соединения РГПУ-238 на показатели системы гемостаза у животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию

Представленные в предыдущем разделе данные свидетельствуют о выраженной эндотелиальной дисфункции, вызванной стрессорным воздействием, при которой нарушается не только эндотелий зависимая вазодилатация, но и его антитромботическая функция.

В патогенезе ишемических болезней органов и систем ведущую роль играет нарушение агрегационных свойств эритроцитов и тромбоцитов (Кукес В.Г. и др., 2004; Закирова А.Н. и др. 2006).

Стресс многими авторами рассматривается как самостоятельный фактор риска тромбоэмболических осложнений, изменению микроциркуляции, что может приводить к нарушению кровоснабжения различных органов (Кукес В.Г. и др., 2004).

В этой связи было исследовано влияние соединения РГПУ-238 на показатели гемостаза стрессированных крыс.

Обнаружено, что в контрольной группе стрессированных животных активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) сократилось на

35,0% ($p<0,05$) по сравнению с показателем интактных животных, что отражает активацию процессов коагуляции. Исследуемое соединение достоверно повышало АЧТВ на 48,7% ($p<0,05$), а фенибут – на 32,5% по сравнению с контрольной группой стрессированных животных (Таблица 9).

Протромбиновое время (ПВ) в контрольной группе уменьшилось на 19,4% по сравнению с аналогичным показателем интактных животных, что свидетельствует об активации внешнего пути образования тромбина на фоне стрессорного воздействия. При введении стрессированным животным соединения РГПУ-238 ПВ повышалось на 31,6% по сравнению с контролем. Введение препарата сравнения фенибута практически не влияло на данный показатель (Таблица 9).

Таблица 9. Влияние соединения РГПУ-238 и фенибута на показатели гемостаза стрессированных животных ($M\pm m$).

Показатели гемостаза	Группы животных			
	Интактная	Стресс +физ. р-р	Стресс +РГПУ-238	Стресс +фенибут
АЧТВ, с	36,9 $\pm$ 9,7	24,0 $\pm$ 7,3*	35,7 $\pm$ 6,8 [#]	31,8 $\pm$ 6,2
ПВ, с	31,4 $\pm$ 6,2	25,3 $\pm$ 6,2	33,3 $\pm$ 7,5	25,4 $\pm$ 8,3
ТВ, с	20,3 $\pm$ 3,9	14,9 $\pm$ 3,1*	19,6 $\pm$ 2,9 [#]	18,4 $\pm$ 3,6
Фибриноген, г/л	2,9 $\pm$ 0,5	3,7 $\pm$ 0,1*	2,9 $\pm$ 0,6 [#]	3,1 $\pm$ 0,4 [#]
Степень агрегации, %	17,3 $\pm$ 4,6	29,9 $\pm$ 5,9*	21,1 $\pm$ 2,9 [#]	20,6 $\pm$ 4,1 [#]
Скорость агрегации, %/мин	22,6 $\pm$ 4,8	40,7 $\pm$ 8,5*	25,9 $\pm$ 5,1 [#]	26,9 $\pm$ 4,1 [#]

Примечание:

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна);

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p<0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

В ходе эксперимента выявлено, что хроническое стрессорное воздействие приводит к укорочению тромбинового времени (ТВ) на 26,6% ($p<0,05$) по сравнению с интактными животными, что также отражает активацию процессов

коагуляции в условиях длительного стрессорного воздействия. Введение исследуемого соединения и фенибута вызывало удлинение ТВ на 31,5% ($p < 0,05$) и 23,4% соответственно по сравнению с показателем группы контроля (Таблица 9).

Концентрация фибриногена у стрессированных животных увеличилась на 27,6% ($p < 0,05$) по сравнению с интактной группой, что свидетельствует о риске тромбообразования у них. В группе животных, получавших соединение РГПУ-238 и фенибут, концентрация фибриногена в плазме крови была ниже на 21,6% ($p < 0,05$) и 16,2% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной группой стрессированных животных (Таблица 9).

Показано, что АДФ-индуцированные степень и скорость агрегации тромбоцитов у контрольной группы стрессированных животных были на 72,8% ($p < 0,05$) и 80,1% ($p < 0,05$) соответственно выше по сравнению с таковыми интактной группы. Соединение РГПУ-238 вызывало снижение степени и скорости агрегации тромбоцитов на 29,4% ($p < 0,05$) и 36,4% ($p < 0,05$); а фенибут - на 31,1% ($p < 0,05$) и 33,9% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной группой стрессированных животных (Таблица 9).

Таким образом, длительное стрессорное воздействие вызывает выраженные сдвиги в сторону гиперкоагуляции и гиперагрегации в плазменно-коагуляционном и сосудисто-тромбоцитарном звеньях гемостаза, о чем свидетельствует укорочение АЧТВ, протромбинового и тромбинового времени, повышение концентрации фибриногена, степени и скорости агрегации тромбоцитов у стрессированных животных по сравнению с интактными. Вероятно, данные эффекты возникают в результате увеличения концентрации адреналина при стрессорном воздействии, который, связываясь со специфическими мембранными рецепторами тромбоцитов, стимулирует синтез тромбоксана A_2 (Самаль А.Б. и др., 1990). Также можно предположить, что данный эффект адреналина, способного активировать агрегацию тромбоцитов, обусловлен модуляцией мембран при его взаимодействии с α -адренорецепторами и изменением её проницаемости к ионам Ca^{2+} (Smith S.K. et al., 1981). Кроме того, адреналин способствует освобождению из стенок сосуда факторов образования

протромбиназы, способен активировать фактор XII в плазме, усиливает расщепление жиров и жирных кислот, которые поступают в кровь и имеют протромбиназную активность (Долгов В.В. и др., 2005). Нельзя исключить возможное негативное влияние стресса на вазодилатирующую и антитромботическую функцию эндотелия, что также может лежать в основе повышения агрегации и свертываемости крови животных, подвергшихся стрессорному воздействию.

Исследуемое соединение РГПУ-238 и препарат сравнения фенибут ограничивают процессы гиперкоагуляции и гиперагрегации тромбоцитов, о чем свидетельствует удлинение АЧТВ, ТВ и ПВ, снижение концентрации фибриногена, а также степени и скорости агрегации тромбоцитов у стрессированных животных, получавших данные вещества, по сравнению с контрольной группой стрессированных животных. Возможно, эти эффекты способствуют ограничению повреждающего действия стресса на эндотелий, способствуют нормализации его вазодилатирующей и антитромботической функции. Вероятно, наличие в структуре РГПУ-238 фрагмента сходного с фенибутом, объясняет его антикоагулянтное и антиагрегантное действие.

6.4 Мембранопротекторное действие соединения РГПУ-238

При длительном стрессорном воздействии активация свободнорадикального окисления приводит к разрушению клеточных мембран и нарушению энергообеспечения клеток. Так как универсальной моделью плазматических мембран является мембрана эритроцитов, можно предположить, что снижение устойчивости эритроцитов к повреждающим агентам отражает дисфункцию и деструкцию клеток организма, вызываемую различными токсическими веществами. В этой связи, было изучено влияние соединения РГПУ-238 у животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию, на резистентность мембран эритроцитов на моделях кислотного и осмотического гемолиза.

Установлено, что у контрольной группы стрессированных животных кислотная резистентность эритроцитов была снижена на 16,3% ($p<0,05$) по сравнению с показателем интактной группы. Соединение РГПУ-238 и препарат сравнения фенибут повышали резистентность мембран эритроцитов к повреждающему действию стресса, о чем свидетельствует снижение степени кислотного гемолиза на 19,7 ($p<0,05$) и 9,4% ($p<0,05$), соответственно, по сравнению с группой контроля (Рисунок 13).

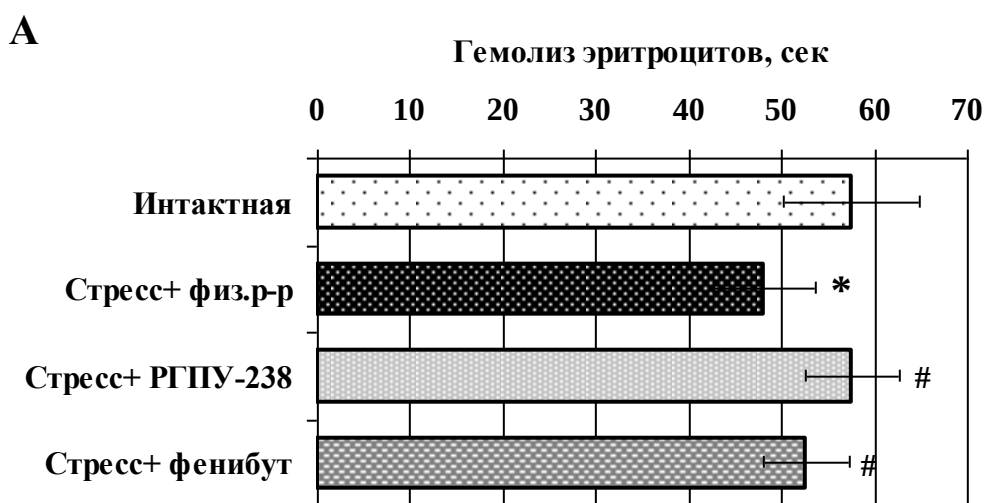


Рисунок 13. Влияние соединения РГПУ-238 на кислотную резистентность эритроцитов стрессированных животных

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна);

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p<0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

Обнаружено, что у стрессированных животных контрольной группы осмотическая резистентность эритроцитов была снижена в 1,7 раза по сравнению с таковой интактной группы. Введение соединения РГПУ-238 способствовало снижению степени гемолиза в 1,7 раза, а введение фенибута – в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой стрессированных животных, что свидетельствует о повышении осмотической устойчивости мембран эритроцитов (Рисунок 14).

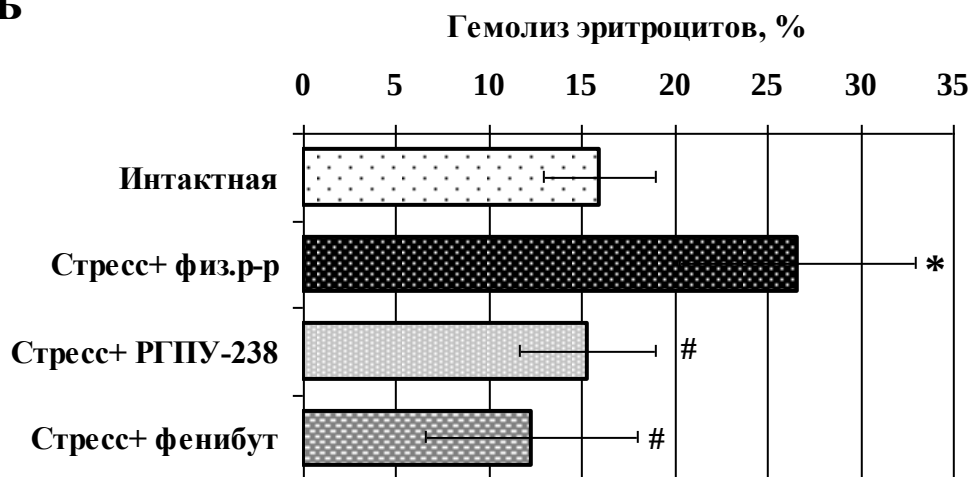
Б

Рисунок 14. Влияние соединения РГПУ-238 на осмотическую резистентность эритроцитов стрессированных животных

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p < 0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна);

- изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p < 0,05$ (критерий Краскела — Уоллиса, с пост-хоком Данна).

Таким образом, проведенное исследование позволяет сделать заключение, что хронический стресс вызывает повреждение клеточных мембран, что выражается в снижении резистентности эритроцитов к действию повреждающих агентов у стрессированных животных по сравнению с интактной группой. Производное глутаминовой кислоты - соединение РГПУ-238 и препарат сравнения фенибут оказывают мембранопротекторное действие, о чем свидетельствует снижение степени гемолиза эритроцитов у животных, получавших исследуемые вещества, по сравнению с контрольной группой стрессированных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной инвалидизации и смертности взрослого населения в экономически развитых странах мира (Сайгитов Р.Т. и др., 2015; Табакаев М.В. и др., 2015). Эмоциональный стресс считается одним из главных этиологических факторов в возникновении болезней сердца. Проблема стресса с годами не теряет актуальности, а становится все более острой в связи с непрерывным ростом социальных, экономических, экологических, технологических и других изменений нашей жизни, а также существенным увеличением интенсивности труда у представителей многих профессий (Табакаев М.В. и др., 2015).

Существенную роль в патогенезе стрессорного повреждения миокарда играет повышение уровня катехоламинов, что влечет за собой увеличение потребности миокарда в кислороде, региональную гипоксию, а также образование и накопление активных форм кислорода, интенсификацию процессов перекисного окисления липидов (Khanna D. et al., 2006; Bacon S.L. et al., 2006; Derian W. et al., 2007; Sawai A. et al., 2007; Lee Y.P. et al., 2008; Chen F. et al., 2009; Prasad I. et al., 2012). Под действием образующихся АФК, продуктов ПОЛ и протеолитических ферментов происходит повреждение мембран сарколеммы, что приводит к нарушению работы ионных каналов клеток сердца и, как следствие, изменению транспорта кальция в кардиомиоцитах, развитию кальциевой контрактуры и гибели клеток (Меньшикова Е.Б. и др., 2006; 2008). Повреждение целостности клеточных мембран кардиомиоцитов вызывает падение сократительной активности сердца, развитие сердечной недостаточности (Tousoulis D. et al., 2012). Повреждение эндотелиоцитов АФК может привести к эндотелиальной дисфункции, т.е. к преобладанию вазоконстрикции над вазодилатацией, а также к снижению антитромбогенного потенциала сосудистой стенки.

Стрессорные повреждения миокарда ограничивают стресс-лимитирующие системы, к которым относятся ГАМК- и NO-ергическая (Меерсон Ф.З., 1984;

Пшенникова М.Г., 2000; Малышев И.Ю. и др., 2000).

Основная роль в реализации стресс-лимитирующего действия ГАМК отводится ГАМК_A-рецепторам. Согласно литературным источникам установлено, что их синтез в коре головного мозга увеличивается после стрессорных воздействий, а на периферии ГАМК ограничивает высвобождение катехоламинов из симпатических нейронов, иннервирующих органы и ткани (Пшенникова М.Г., 2000; Gunn B.G. et al., 2015).

При стрессе также значительно возрастает синтез оксида азота в различных органах и тканях, он модулирует высвобождение гормонов в гипоталамусе и гипофизе, ограничивает активацию симпатико-адреналовой системы, ингибируя высвобождение катехоламинов из надпочечников (Малышев И.Ю. и др., 2000; Мацко М.А., 2004; Herbert J. et al., 2006). Кроме того, имеются данные, что NO может ограничивать повреждающее действие стресс-реакции за счет увеличения активности антиоксидантных ферментов и снижения интенсивности протекания свободно-радикальных процессов (Dobashi K. et al., 1997).

Возрастные морфофункциональные изменения в сердечно-сосудистой системе, характеризующиеся морфологическими и функциональными изменениями в сосудах, снижением скорости кровотока и поступления кислорода к тканям, увеличением образования АФК, нарушением энергетического обмена и нейрогуморальной регуляции работы сердца, обуславливают повышение чувствительности сердца к повреждающему действию стрессорных факторов (Townsend D. et al., 2011). В результате происходит снижение инотропной и насосной функций сердца, которое проявляется уменьшением скорости сокращения и расслабления миокарда, ударного и минутного объемов крови и функциональных резервов сердца (Uchino B.N. et al., 2005; Ikeda Y. et al., 2014; Zhang Y. et al., 2014).

Несмотря на большое количество кардиологических препаратов, прогноз у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, зачастую остается крайне неблагоприятным. В этой связи является актуальным поиск и создание новых

эффективных лекарственных препаратов. Учитывая многообразный характер стрессорного повреждения миокарда, целесообразным является поиск и разработка лекарственных средств, одновременно влияющих на его различные патогенетические механизмы.

В последнее десятилетие ведется активный поиск кардиопротекторных препаратов, способных активировать стресс-лимитирующие системы, ограничивать последствия стрессорного воздействия, оказывать эндотелиопротекторное действие (Перфилова В.Н. и др., 2006; 2009; Маслов Л.Н. и др., 2007; 2012; Лишманов Ю.Б. и др., 2008; Матасова Л.В. и др., 2008; Тюренков И.Н. и др., 2008; Хазанов В.А. и др., 2009; Ковалева М.В., 2011; Гурова Н.А. и др., 2013; Чукаева И.И. и др., 2013).

Имеющиеся экспериментальные и клинические данные показывают, что глутаминовая кислота и ее производные обладают кардиопротекторными, противоаритмическими, протифибрилляторными (Филатова Н.М. и др., 2009; 2012; Блинов Д.С. и др., 2012; Гогина Е.Д. и др., 2012; Крыжановский С.А. и др., 2013; Мокроусов И.С., 2014), антигипоксическими свойствами, способностью ограничивать процессы ПОЛ и повышать активность антиоксидантных ферментов (Удинцев Н.А. и др., 1984; Калинина Е.В. и др., 2003, 2007; Макарова Л.М. и др., 2013; Максимова Л.Н. и др., 2013).

В связи с вышесказанным нами был проведен целенаправленный скрининг среди 9 новых производных глутаминовой кислоты, который позволил выявить вещества с выраженной кардиопротекторной активностью.

На модели 24-х часового иммобилизационно-болевого стрессирования с использованием функциональных проб: проба на адренореактивность, изометрическая нагрузка, было выявлено снижение функциональных резервов сердца у стрессированных животных контрольной группы, что проявлялось более низким приростом скоростей сокращения и расслабления миокарда, левожелудочкового давления, частоты сердечных сокращений на 20-й секунде стимуляции адренорецепторов сердца относительно исходных параметров по

сравнению с группой интактных животных. При изометрической нагрузке прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, левожелудочкового давления и максимальной интенсивности функционирования структур также более существенно снижался к 30 секунде пережатия восходящей части дуги аорты относительно исхода по сравнению с интактными животными. Таким образом, 24-х часовое иммобилизационно-болевое стрессирование в значительной степени снижало ино- и хронотропные резервы сердца, что вероятно, может быть связано с гиперактивацией симпатической системы при стрессе, увеличением ЧСС, сужением периферических сосудов, т.е. увеличением постнагрузки, что ведет к повышению потребления миокардом кислорода, а также индукцией процессов перекисного окисления липидов из-за избытка катехоламинов с последующим развитием ишемии, контрактуры миокарда и нарушением сократительной насосной функции сердца (Sawai A. et al., 2007; Lee Y.P. et al., 2008; Chen F. et al., 2009; Tousoulis D. et al., 2012).

В результате проведенного скрининга кардиопротекторный эффект при проведении нагрузочных проб был выявлен у – соединения РГПУ-135. Модификация его замещением двух гидроксильных групп метильными радикалами с образованием диметилового эфира гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты – соединение РГПУ-238 привела к усилению кардиопротекторного действия. Добавление этильных групп к гидрохлориду 3-фенилглутаминовой кислоты с образованием диэтилового эфира (соединение РГПУ-239) не вызывало увеличения специфической активности, у стрессированных животных наблюдалось повышение функциональных резервов сердца в условиях нагрузочных проб, однако, данный эффект был менее выражен по сравнению с соединением РГПУ-135. Присоединение хлора к фенильному кольцу диметилового эфира гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты (соединение РГПУ-240), так же как и введение в бензольное кольцо атома азота (соединение РГПУ-241), не приводило к увеличению кардиопротекторной активности.

При скрининге веществ с кардиопротекторным действием среди композиций 3-фенилглутамата с органическими кислотами выявлено, что наиболее выраженной активностью обладают композиции с лимонной (соединение РГПУ-222) и янтарной (соединение РГПУ-223) кислотами, но по силе исследуемого эффекта они уступали соединению РГПУ-238. Композиции 3-фенилглутаминовой кислоты с яблочной (соединение РГПУ-233) и салициловой (соединение РГПУ-234) практически не влияли на функциональные резервы сердца, при проведении нагрузочных проб наблюдался слабый прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, а также ЛЖД и МИФС, т.е. не защищали миокард от повреждения стрессорным воздействием.

Таким образом, в результате проведенного поиска наиболее активным оказалось соединение РГПУ-238. Вероятно, специфическая активность нового производного глутаминовой кислоты обусловлена наличием в его химической структуре тормозных нейромедиаторов ГАМК и глицина. Можно предположить, что они активируют ГАМК-ергическую систему и вызывают усиление тормозных процессов, что способствует ограничению имеющего место при стрессорном воздействии чрезмерного возбуждения гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, нарушения метаболизма, структуры и функционирования кардиомиоцитов, снижения ино- и хронотропных резервов сердца.

При изучении зависимости «доза-эффект» соединения РГПУ-238 на животных, подвергшихся иммобилизационно-болевого стрессированию, выявлено, что наибольший прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, ЧСС и МИФС по отношению к исходу в условиях проведения нагрузочных проб наблюдается при введении исследуемого вещества в дозе 28,7 мг/кг. При дальнейшем повышении дозы увеличения эффекта не наблюдалось, поэтому она была выбрана для дальнейшего исследования.

При блокаде NO-синтаз неселективным ингибитором L-NAME у животных, подвергшихся 24-часовому иммобилизационно-болевого стрессированию, прирост показателей кардиодинамики при проведении пробы на

адренореактивность и увеличении постнагрузки был значительно ниже, чем у стрессированных животных контрольной группы. Отмечено уменьшение стрессоустойчивости, о чем свидетельствует высокий процент гибели их при стрессировании, во время наркотизации, при торакотомии и после проведения функциональных проб. Возможно, причиной этого является снижение активности стресс-лимитирующей NO-ергической системы в связи с недостаточной выработкой оксида азота, что приводит к неконтролируемому высвобождению гормонов стресса в ЦНС и на периферии, вызывает активацию процессов негативного действия на миокард и существенные функциональные нарушения. При ингибировании NO-синтаз вероятно снижается активность и еще одной стресс-лимитирующей системы - ГАМК-ергической. Из литературных данных известно, что обе эти системы - NO- и ГАМК-ергическая - функционируют в тесной взаимосвязи (Li Y. et al., 2003; Liu C.N. et al., 2005; McBryde F.D. et al., 2011; Kamran M. et al., 2013; Sagi Y. et al., 2014; Gasulla J. et al., 2015).

В условиях блокады индуцибельной NO-синтазы аминогуанидином в дозе 50 мг/кг у стрессированных животных в ответ на введение адреналина прирост ЛЖД, скоростей сокращения и расслабления миокарда относительно исходных значений был выше, а ЧСС ниже, чем в группе животных, получавших физиологический раствор. При проведении изометрической нагрузки также отмечен более высокий прирост ЛЖД и МИФС на 5 и 30 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты, по сравнению с животными контрольной группы, подвергшимся иммобилизационно-болевому стрессу, прирост показателей сократимости практически не отличался в обеих группах. Согласно литературным данным, в условиях стрессорного воздействия iNOS активируется при стрессе и продуцирует большое количество оксида азота, что оказывает негативный инотропный эффект, способствует увеличению выработки оксида азота в миокарде в сотни раз. Высокий уровень оксида азота потенцирует образование пероксинитрита – реакционноспособного соединения, обладающего прооксидантным действием и приводящего к повреждению клеток сердца

(Olivenza R. et al., 2000; Villanueva C. et al., 2010) и кардиодепрессии (Сосунов А.А., 2000; Парахонский А.П., 2010; Muller-Strahl G. et al., 2000; Gealekman O. et al., 2002). Возможно, что полученные данные обусловлены снижением гиперпродукции оксида азота вследствие ингибирования данной изоформы NO-синтазы, а конститутивные NOS обеспечивают его базальные уровни, оказывающие противострессорное действие и улучшающие сократимость миокарда.

При введении стрессированным животным селективного блокатора нейрональной NO-синтазы 7-нитроиндазола в дозе 50 мг/кг, прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и ЧСС на 20 секунде проведения пробы на адренореактивность был ниже значений контрольной группы животных, получавших физиологический раствор. На 5 секунде окклюзии восходящей части дуги аорты показатели сократимости миокарда практически не отличались от таковых контрольной группы. К 30 секунде проведения нагрузки было выявлено снижение прироста скоростей сокращения и расслабления миокарда, относительно показателей стрессированных животных, прирост ЛЖД и МИФС совпадал с таковым группы контроля. Имеющиеся литературные данные показывают, что pNO-синтаза продуцирует оксид азота, стимулирующий перемещение кальция в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов, регулирует процессы сопряжения возбуждения и сокращения, тем самым увеличивая сократимость миокарда (Парахонский А.П., 2010; Alvarez S. et al., 2004). В связи с вышесказанным, можно предположить, что полученный результат связан с дефицитом оксида азота, возникающим при ингибировании nNOS, который приводит к нарушению сократимости миокарда и, как следствие, снижению инотропной функции сердца. В то же время гиперпродукция NO индуцибельной NOS способствует образованию пероксинитрита и развитию оксидативного стресса, который повреждает мембраны, митохондрии и другие структуры кардиомиоцитов и вызывает снижение функциональных резервов сердца.

Новое производное глутаминовой кислоты - соединение РГПУ-238 – способно ограничивать повреждающее действие стресса на сердце при блокаде NO-системы, на что указывал более выраженный прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС при введении адреналина и окклюзии восходящей части дуги аорты, чем у стрессированных животных в условиях ингибирования NO-синтаз. Исследуемое соединение повышает стрессоустойчивость животных, на что указывает отсутствие случаев гибели стрессированных крыс, получавших L-NAME. Препарат сравнения фенибут значительно уступает по эффективности исследуемому соединению.

При изучении влияния исследуемого соединения на функциональные резервы сердца крыс, подвергшихся 24-часовому стрессорному воздействию в условиях блокады индуцибельной NO-синтазы аминогуанидином, было выявлено достоверное повышение прироста ЛЖД, скорости сокращения и расслабления миокарда, по сравнению с таковым животных контрольной группы в ответ на введение адреналина. При проведении максимальной изометрической нагрузки достоверных различий со стрессированными самками, получавшими аминогуанидин, обнаружено не было.

У стрессированных животных, которым вводили соединение РГПУ-238 и селективный блокатор нейрональной NO-синтазы - 7-нитроиндазол, было выявлено достоверное увеличение прироста показателей сократимости и ЛЖД по сравнению с показателями соответствующей контрольной группы крыс при проведении пробы на адренореактивность. На 5 и 30 секундах окклюзии восходящей части дуги аорты было обнаружено значительное повышение прироста скоростей сокращения и расслабления миокарда по сравнению таковыми контрольной группы. Возможно, соединение РГПУ-238 является лигандом глутаматных рецепторов NMDA-типа, связанных с кальциевыми каналами, активация которых приводит к стимуляции синтеза оксида азота конститутивными кальцийзависимыми NOS и ограничению центрального и периферического звеньев стресс-реакции.

При введении стрессированным животным блокатора ГАМК_A-рецепторов - бикикулина - наблюдалось более выраженное снижение инотропной функции миокарда, чем у крыс контрольной группы, на что указывает меньший прирост $+dP/dt \max$, $-dP/dt \max$, ЛЖД, ЧСС и МИФС при стимуляции адренорецепторов сердца и максимальной изометрической нагрузке. Очевидно, блокада ГАМК_A-рецепторов вызывает снижение активности ГАМК-ергической системы в ограничении повреждающего действия стресса на сердце, что согласуется с литературными данными (Меерсон Ф.З. и др., 1989). Введение соединения РГПУ-238 вызывало достоверное увеличение прироста скорости сокращения и расслабления миокарда и ЛЖД при проведении пробы на адренореактивность по сравнению с показателями контрольной группы животных. В условиях проведения максимальной изометрической нагрузки в группе самок, получавших бикикулин, наблюдалось значительное повышение прироста МИФС на 5 и 30 секунде пережатия восходящей части дуги аорты, по сравнению с таковым контрольной группы животных. В группе стрессированных крыс, которым вводили блокатор ГАМК_A-рецепторов и соединение РГПУ-238, прирост $+dP/dt$, $-dP/dt$ и ЛЖД на 30 секунде проведения нагрузки достоверно превосходил таковой у контрольной группы. Полученные данные позволяют предположить, что исследуемое соединение функционально взаимодействует с NO-ергической системой и в условиях блокады ГАМК-ергической ограничение стрессорного повреждения сердца реализуется через систему оксида азота.

Обнаружено зависимое от возраста снижение инотропной функции сердца у интактных животных, что доказывает статистически значимая разница показателей у 24-х месячных самок по сравнению с крысами в возрасте 6-ти и 12-ти месяцев при проведении нагрузочных тестов, что согласуется с литературными данными. Установлено, что с возрастом у людей развиваются морфофункциональные изменения в миокарде, происходит нарушение обменных процессов и нейрогуморальной регуляции сердца и это приводит к снижению его функциональных резервов (Hua Y. et al., 2011; Khan M. et al., 2012). При старении

уменьшается количество кардиомиоцитов, нарастает содержание медленных изоформ миозина, развивается очаговая дистрофия мышечных волокон, миокардиальный фиброз, а также нарушается обмен кальция между саркоплазматическим ретикулумом и митохондриями, развивается окислительный стресс (Turdi S. et al., 2010; Strait J.B. et al., 2012; Kwak H.B., 2013; Zhang Y. et al., 2014).

В результате проведения 24-х часового иммобилизационно-болевого стрессирования в группах животных в возрасте 6, 12 и 24 месяцев, был выявлен меньший прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, МИФС и ЧСС в ответ на нагрузки по сравнению с таковыми интактных крыс. В группах 12 и 24-х месячных животных наблюдалось более низкое исходное ЛЖД и урежение ЧСС по сравнению с 6-ти месячными, что возможно связано с возраст-зависимым снижением эластических свойств артерий и тонуса вен, нарушением симпатического контроля сердечного ритма, и как следствие, уменьшением частоты сердечных сокращений и фракции выброса (Stratton J.R. et al., 2003).

У 24-х месячных стрессированных животных контрольной группы увеличение показателей сократимости миокарда, ЛЖД, МИФС и ЧСС в ответ на проведение нагрузочных проб было существенно ниже, чем у крыс 6-ти и 12-ти месячного возрастов. Полученные нами результаты совпадают с литературными данными, в которых показано ограничение диапазона компенсаторных реакций у людей пожилого и старческого возраста при возникновении стрессовых ситуаций, в связи с чем сердечная недостаточность развивается раньше и быстро прогрессирует (Коркушко О.В. и др., 2012).

В группах стрессированных животных всех возрастов, получавших соединение РГПУ-238, при проведении нагрузочных проб были получены более высокие показатели по сравнению с таковыми крыс контрольных групп. При этом наиболее выраженный прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и МИФС отмечается у 24-х месячных животных по сравнению с 6-ти и 12-ти месячными. Препарат сравнения фенибут также увеличивает прирост

показателей, в большей степени у 24-х месячных животных.

В условиях длительного стрессорного воздействия у животных в возрасте 12 и 24 месяцев также было обнаружено истощение функциональных резервов сердца, что проявлялось более низким приростом показателей сократимости миокарда, ЛЖД, ЧСС и МИФС при проведении нагрузочных проб по сравнению с таковыми группы интактных животных. Возможно, полученные результаты обусловлены ослаблением действия стресслимитирующих систем у стареющих животных в связи с развитием дистрофических изменений, на что указывает увеличение количества гиперхромных (поврежденных) клеток, участков выпадений нейроцитов в пирамидном слое СА3 зоны вентрального гиппокампа, что может свидетельствовать о развивающейся при хроническом стрессировании гиппокампальной дисфункции и нарушением процесса нормального нейрогенеза. В совокупности, все вышеперечисленное приводит к повышению уязвимости организма старых крыс к действию стрессорного агента и усугублению повреждающего эффекта.

Новое производное глутаминовой кислоты способно ограничивать стрессорное нарушение сократительной функции миокарда, о чем свидетельствует более выраженный прирост исследуемых показателей у животных обеих возрастных групп, получавших препарат, по сравнению с таковыми самцов контрольной группы в ответ на проведение функциональных тестов. Наиболее высокий прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, ЧСС и МИФС наблюдался в группе животных 24-х месячного возраста, что совпадает с результатами исследования на модели острого стрессирования. Препарат сравнения фенибут также повышал функциональные резервы сердца во всех исследуемых группах животных в ответ на проведение нагрузочных проб, однако, соединение РГПУ-238 превосходило его по силе кардиопротекторного действия. Поскольку соединение РГПУ-238 является производным глутаминовой кислоты, обладающей антигипоксическим и антиоксидантным действием (Удинцев Н.А. и др., 1984), можно предположить,

что именно благодаря этим свойствам исследуемое вещество способно повышать функциональные резервы стареющего сердца в условиях острого стресса.

Кроме этого, зависимое от возраста увеличение кардиопротекторного действия соединения РГПУ-238 может быть обусловлено состоянием микросомальной системы печени и сниженной активностью цитохрома Р450, что способствует более длительному поддержанию высоких концентраций соединения в тканях (Арутюнян А.В. и др., 2009; Agrawal A.K. et al., 2003).

Как было сказано выше, стрессорное воздействие вызывает повреждение кардиомиоцитов, опосредованное множеством взаимозависимых факторов, среди которых ключевую позицию занимают процессы свободнорадикального окисления (Меерсон Ф.З. и др., 1988; Fulda S. et al., 2010; Devaki M. et al., 2013; Wang C.H. et al., 2013) представлялось целесообразным изучение влияния нового производного глутаминовой кислоты на процессы ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов. В группе животных, подвергшихся 24-х часовому стрессированию, было выявлено повышенное образование первичных и вторичных продуктов ПОЛ - диеновых конъюгатов, дикетонов и МДА, а также снижение активности СОД, ГП и каталазы в митохондриях сердца по сравнению с таковыми группы интактных животных. Соединение РГПУ-238 и препарат сравнения фенибут ограничивают процессы ПОЛ, снижая концентрацию диеновых конъюгатов, дикетонов и МДА по сравнению с показателями контрольной группы стрессированных животных. При этом повышается активность антиоксидантных ферментов - СОД, ГП и каталазы. Возможно, это связано со способностью исследуемого соединения ограничивать стресс-реакцию, выброс катехоламинов, активацию процессов ПОЛ и их повреждающее действие на кардиомиоциты.

Интенсификация ПОЛ при стрессорном воздействии вызывает повреждение клеточных мембран, что подтверждается снижением кислотной и осмотической резистентности эритроцитов в группах стрессированных животных по сравнению с интактными. Соединение РГПУ-238 и препарат сравнения фенибут вызывают

повышение устойчивости мембран эритроцитов к действию повреждающих агентов, что свидетельствует о наличии у них мембранопротекторных свойств. Можно предположить, что мембранопротекторное действие исследуемого соединения обусловлено способностью ограничивать процессы ПОЛ и активировать антиоксидантные ферменты.

Развивающийся при стрессе оксидативный стресс может способствовать нарушению функции эндотелия сосудов (Higashi Y. et al., 2009). Эндотелиальная дисфункция приводит к вазоконстрикции, усилению агрегации тромбоцитов, синтезу и секреции веществ, обладающих прокоагулянтными свойствами (Verhamme P. et al., 2006; Rajendran P. et al., 2013). Нами было выявлено ослабление реакции сосудов на введение ацетилхолина и нитро-L-аргинина у животных после длительного стрессирования по сравнению с показателями крыс интактной группы. Соединение РГПУ-238 ограничивало нарушение функции эндотелия при хроническом стрессорном воздействии, что проявилось увеличением МК в ответ на введение АЦХ и снижением при введении нитро-L-аргинина. В группе стрессированных животных, получавших фенибут, достоверных различий с показателями, полученными в контрольной группе, отмечено не было.

Хроническое стрессирование крыс вызывало выраженные сдвиги в системе гемостаза в сторону гиперкоагуляции и гиперагрегации в плазменно-коагуляционном и сосудисто-тромбоцитарном звеньях гемостаза. Соединение РГПУ-238 и фенибут ограничивали эти процессы, что проявляется удлинением АЧТВ, ТВ, ПВ, снижением концентрации фибриногена, степени и скорости агрегации тромбоцитов по сравнению с показателями контрольной группы стрессированных животных. В связи с вышесказанным, можно предположить наличие у исследуемого соединения эндотелиопротекторного действия.

Было выявлено достоверное увеличение продолжительности жизни в условиях нормобарической гипоксии с гиперкапнией у мышей, получавших соединение РГПУ-238 и препарат сравнения фенибут, относительно контрольной

группы стрессированных животных, что свидетельствует о наличии у соединений антигипоксических свойств.

Таким образом, кардиопротекторное действие нового производного глутаминовой кислоты обусловлено в первую очередь противострессорным эффектом. Ограничение симпатических влияний на сердце обуславливает ограничение окислительного стресса, улучшение вазодилатирующей и антиагрегантной функции эндотелия.

ВЫВОДЫ

1. Среди новых производных глутаминовой кислоты выявлено соединение РГПУ-238 (диметиловый эфир гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты), обладающее наиболее выраженным кардиопротекторным действием в условиях 24-х часового стрессорного воздействия.
2. Анализ зависимости специфической активности исследуемых веществ от химической структуры показывает, что кардиопротекторный эффект базового соединения - гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135) - максимально усиливается при замещении водорода в карбоксильных группах метильными радикалами (соединение РГПУ-238). Модификация фенильного кольца атомами хлора (соединение РГПУ-240) и азота (соединение РГПУ-241), а также композиции 3-фенилглутаминовой кислоты с органическими кислотами (лимонной, яблочной, янтарной, салициловой) не приводит к усилению кардиопротекторного эффекта гидрохлорида 3-фенилглутаминовой кислоты.
3. Проведенный анализ зависимости «доза-эффект» выявил, что у животных, подвергшихся стрессорному воздействию, наиболее высокие показатели сократимости миокарда в условиях нагрузочных проб наблюдаются при введении соединения РГПУ-238 в дозе 28,7 мг/кг. Острая суточная токсичность при внутрибрюшинном введении составила 1619,8 (1339,0-1959,5) мг/кг, терапевтический индекс равнялся 56,4.
4. Неизбирательное и селективное ингибирование NOS, а также ГАМК_A-рецепторов до стрессорного воздействия приводит к усугублению нарушения сократимости миокарда. Соединение РГПУ-238 модулирует активность NO- и ГАМК-ергической стресс-лимитирующих систем, способствует уменьшению негативного действия стресса на миокард, о чем свидетельствуют более высокие функциональные резервы сердца в условиях проведения нагрузочных тестов.
5. Острое и хроническое стрессорное воздействие вызывает снижение

инотропных резервов сердца у 6-ти, 12-ти и 24-х месячных крыс. Соединение РГПУ-238 улучшает ино- и хронотропную функции сердца стрессированных животных всех возрастов, но наиболее выражено у 24-х месячных, на что указывает повышение прироста скорости сокращения миокарда при проведении нагрузочных проб в среднем в 2,4, скорости расслабления - в 2,2, ЛЖД - в 2,1, МИФС - в 2,0 раза относительно данных, полученных у крыс контрольной группы.

6. Длительное стрессорное воздействие приводит к нарушению вазодилатирующей и антитромботической функции эндотелия. У стрессированных крыс, получавших в течение 7 дней соединение РГПУ-238, на более высоком уровне сохранялась эндотелийзависимая вазодилатация в ответ на введение АЦХ и снижение реакции на нитро-L-аргинин по сравнению с показателями стрессированных животных контрольной группы, регистрировалось удлинение АЧТВ в 1,5, ТВ и ПВ - в 1,3, снижение концентрации фибриногена - в 1,3, а также степени и скорости агрегации тромбоцитов - в 1,4 и 1,6 раза.
7. Соединение РГПУ-238 способствует снижению количества ДК, МДА, кетодиенов в среднем в 1,2 раза и повышению активности антиоксидантных ферментов - СОД, каталазы и ГП в среднем в 1,25 раза по сравнению с показателями стрессированных крыс контрольной группы. Исследуемое вещество оказывает мембранопротекторное и антигипоксическое действие, на что указывает снижение в среднем в 1,6 раза степени кислотного и осмотического гемолиза эритроцитов и увеличение продолжительности жизни мышей в условиях нормобарической гипоксии с гиперкапнией в 1,2 раза по сравнению с показателями животных контрольной группы.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выявленная способность соединения РГПУ-238 ограничивать негативное влияние острого и хронического стресса на миокард у животных разных возрастных групп свидетельствует о перспективности дальнейшей разработки на его основе лекарственного препарата для предупреждения стрессорных повреждений миокарда.
2. Целесообразно продолжить синтез и дальнейший поиск среди новых производных глутаминовой кислоты для последующей разработки высокоактивных и малотоксичных веществ со стресс- и кардиопротекторной активностью.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

А – адреналин

АВ - аргинин-вазопрессин

АКТГ - адренотропный гормон

АТФ - аденозинтрифосфат

АФК - активные формы кислорода

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

В/бр - внутривенно

ГАМК - гамма-аминомасляная кислота

ГК – глутаминовая кислота

ГОМК - гамма-оксимасляная кислота

ГП – глутатионпероксидаза

ДК – диеновые конъюгаты

ДМСО - диметилсульфоксид

КРГ - кортикотропин-рилизинг-гормон

КХ – катехоламины

ЛД₅₀ – среднелетальная доза

ЛЖД - левожелудочковое давление

МДА - малоновый диальдегид

МИФС - максимальная интенсивность функционирования структур

НА - норадреналин

ПВ – протромбиновое время

ПОЛ - перекисное окисление липидов

РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система

СОД — супероксиддисмутаза

СРО – свободно-радикальное окисление

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ССС – сердечно-сосудистая система

СТГ – соматотропный гормон

ТБК – тиобарбитуровая кислота

ТВ – тромбиновое время

ТИ – терапевтический индекс

ТТГ – тиреотропный гормон

ТХУК – трихлоруксусная кислота

Физ. р-р – физиологический раствор

ЦНС - центральная нервная система

ЧСС - частота сердечных сокращений

$+dP/dt \max$ - скорость сокращения миокарда (первая производная левожелудочкового давления)

$-dP/dt \max$ - скорость расслабления миокарда (вторая производная левожелудочкового давления)

eNOS – эндотелиальная NO-синтаза

IL – интерлейкин

iNOS – индуцибельная NO-синтаза

L-NAME – N-нитро-L-аргинин метиловый эфир

NK-рецепторы – нейрокининовые рецепторы

nNOS – нейрональная NO-синтаза

NO - оксид азота

NOS – NO-синтаза

NPY – нейропептид Y

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акопян, В.П. Участие системы ГАМК в адаптационной перестройке мозгового кровообращения в условиях гипокинезии / В.П. Акопян // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2003. - Т.66, № 3. - С. 4-8.
2. Андреева, Л.А. Дисрегуляция NO/cGMP/cADPr/Ca²⁺-сигнального пути в сосудах и миокарде спонтанно гипертензивных крыс / Л.А. Андреева, О.В. Накипова, А.И. Сергеев и др. // Фундаментальные исследования. - 2013. - №6. - С. 1397-1401.
3. Апчел, В.Я. Стресс и стрессоустойчивость человека / В.Я. Апчел, В.Н. Цыган. - СПб.: Военно-медицинская академия, 1999. - 86 с.
4. Арутюнов, Г.П. Стресс и атеросклероз: позиция кардиолога / Г.П. Арутюнов // Пленум» (приложение к журналу «Серце»). - 2006. - Т. 2, № 2. - С. 4-7.
5. Арутюнян, А.В., Козина Л.С. Механизмы свободнорадикального окисления и его роль в старении / А.В. Арутюнян, Л.С. Козина // Успехи геронтологии. - 2009. - Т. 22, № 1. - С. 104-116.
6. Багметова, В.В. Изучение нейропсихофармакологических эффектов нового производного глутаминовой кислоты соединения РГПУ-197 / В.В. Багметова, М.Н. Багметов, И.Н. Тюренков и др. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2012. - № 1. - С. 54-59.
7. Багметова, В.В. Сравнительная оценка антидепрессивных свойств гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135, глутарон) / В.В. Багметова, Ю.В. Чернышева, О.В. Меркушенкова и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2013. - Т. 76, № 3. - С. 7-9.
8. Багметова, В.В. Сравнительное изучение влияния глутаминовой кислоты и гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135, нейроглутама) на физическую работоспособность животных / В.В. Багметова, Ю.В. Чернышева // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 9. - С. 319-322.

9. Беленков, Ю.Н. Распространенность хронической сердечной недостаточности в Европейской части Российской Федерации – данные ЭПОХА-ХСН (часть 2) / Ю. Н. Беленков, И. В. Фомин, В.Ю. Мареев и др. // Сердечная Недостаточность. - 2006. - № 3. - С. 3-7.
10. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963. - 152 с.
11. Беликова, М.В. Изменения содержания катехоламинов, показателей ПОЛ и антиоксидантной системы в плазме крови при старении / М.В. Беликова, Я.В. Зиневич, А.В. Луценко и др.// Мир Медицины и Биологии. - 2014. - Т. 46, № 4. - С. 022-025.
12. Берестовицкая, В.М. Производные глутаминовой кислоты: способы получения и биологическая активность / В.М. Берестовицкая, О.С. Васильева, Е.С. Остроглядов и др. // Известия РГПУ им. А.И. Герцена; естественные и точные науки. - 2004. - Т. 8, № 4. - С. 158-176.
13. Блинов, Д.С. Исследование кардиопротекторного действия деанола ацеглумата в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения / Д.С. Блинов, Е.В. Блинова, Л.В. Пивкина и др. // Вестник новых медицинских технологий. - 2012. - Т. 19, № 2. - С. 32-34.
14. Блинов, Д.С. Исследование противоаритмической активности третичного производного лидокаина / Д.С. Блинов, Я.В. Костин // Росс. кард. Журнал. - 2003. - № 6. - С. 56-58.
15. Блинова, Е.В. Исследование антиишемической активности препаратов антиоксидантного типа действия при сахарном диабете в эксперименте / Е.В. Блинова, Р.К. Байчурин, Н.М. Филатова и др. // Материалы научной конференции «XL Огаревские чтения» Мед. ин-та Мордов. гос. ун-та. Вып. 15. - Саранск, 2011. - С. 23-26.
16. Бугаева, Л.И. Острая токсичность субстанции гидрохлорида β -фенилглутаминовой кислоты при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам / Л.И. Бугаева, И.Н. Тюренков, В.В. Багметова и др. //

- Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2012. - Т. 44, № 4. - С. 34-38.
17. Вислобоков, А.И. Изменения внутриклеточных потенциалов нейронов моллюска под влиянием гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты / А.И. Вислобоков, Ю.Д. Игнатов, В.В. Багметова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013. - № 12. - С. 672-676.
 18. Волошин, Л.В., Малахов В.А., Завгородняя А.Н. Эндотелиальная дисфункция при цереброваскулярной патологии. - Харьков, 2006. - 92 с.
 19. Воронина, Т.А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Т.А. Воронина, Р.У. Островская // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: ИИА «Ремедиум», 2000. - С. 153-161.
 20. Габбасов, З.А. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов / З.А. Габбасов, Е.Г. Попов, И.Ю. Гаврилов и др. // Лабораторное дело. - 1989. - № 10. - 18 с.
 21. Гаевый, М.Д. Ишемия головного мозга, вызванная гравитационной перегрузкой / М.Д. Гаевый, Л.М. Аджиенко, Л.М. Макарова и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2000. - Т.63, №3. - С. 63-64.
 22. Гогина, Е.Д. Фармакологическое действие деанола ацеглумата при ишемическом повреждении миокарда / Е.Д. Гогина, Д.С. Блинов, Н.М. Филатова и др. // Вестник новых медицинских технологий. - 2012. - Т. 19, №1. - С. 73-75.
 23. Городецкая, И.В. Зависимость устойчивости организма к хроническому стрессу от тиреоидного статуса / И.В. Городецкая, Н.А. Корневская // Российский физиологический журнал. - 2011. - № 12. - С. 1346-1354.
 24. Гречко, О.Ю. Кардиоваскулярные свойства новых производных фенибута и карфедона: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.25 / Гречко Олеся Юрьевна. – Волгоград, 2000. - 150 с.

25. Гуревич, М.А. Особенности лечения хронической сердечной недостаточности у больных пожилого и старческого возраста / М.А. Гуревич // Российский кардиологический журнал. - 2008. - № 4. - С. 77-81.
26. Гурова, Н.А. Кардиопротекторные свойства зонипорида на модели ишемического и реперфузионного повреждения миокарда у крыс / Н.А. Гурова, А.А. Спасов, А.С. Тимофеева и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2013. - Т. 76, № 8. - С. 17-19.
27. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свирин. М.: Триада, 2005. - 227 с.
28. Ершов, И.Н. Исследование эндотелио- и кардиопротективного эффекта пикамилона и депакина энтерика: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Курск. - 2009. - 23с.
29. Закирова, А.Н. Роль перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и реологических нарушений в развитии ишемической болезни сердца / А.Н. Закирова, Н.Э. Закирова // Росс. кардиологич. журн. - 2006. - №2. - С. 24-28.
30. Заславская, Р.М. Оценка эффективности метаболитной терапии комплексом аминокислот у больных ишемической болезнью сердца пожилого возраста / Р.М. Заславская, И.А. Комиссарова, Е.В. Калинина и др. // Клиническая Медицина. - 1999. - № 77. - С. 46-49.
31. Игнатов, Ю.Д. Новое производное глутаминовой кислоты РГПУ-135 (глутарон, нейроглутамин) модулирует ионные токи нейронов моллюсков / Ю.Д. Игнатов, А.И. Вислобоков, И.Н. Тюренков и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2012. - № 12. - С. 3-6.
32. Измеров, Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии / Н.Ф. Измеров, И.В. Саноцкий, К.К. Сидоров. Справочник. М., 1977.
33. Калинина, Е.В. Антиоксидантный эффект Элтацина в терапии больных ИБС пожилого возраста: сборник научно-практических работ сотрудников

- городской клинической больницы № 60 / Е.В. Калинина, Р.М. Заславская. - М.: Оверлей, 2007. - С. 118-120.
34. Калинина, Е.В. Влияние метаболитного препарата Элтацин на оксидантный уровень больных ИБС пожилого возраста / Е.В. Калинина, И.А. Комиссарова, Р.М. Заславская и др. // Клиническая Геронтология. - 2003. - Т.9, №9. - 9 с.
 35. Калинин, С.Ю. Окислительный стресс как причина системного старения. Роль препаратов α -липоевой кислоты (Эспа-Липон) в лечении и профилактике возраст-ассоциированных заболеваний / С.Ю. Калинин, Л.О. Ворслов, И.А. Тюзиков и др. // Фарматека. - 2014. - №6. - С. 43-54.
 36. Кацнельсон, Л.Б. Механизмы нарушений электромеханической функции кардиомиоцитов при перегрузке кальцием. Теоретическое исследование / Л.Б. Кацнельсон, Т.Б. Сульман, О.Э. Соловьева и др. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2007. - Т. 93, № 9. - С. 969-981.
 37. Киселева, Н.М. Возможная роль тимуса в работе стресс-лимитирующей системы / Н.М. Киселева, А.Н. Иноземцев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2010. - № 3. - С. 13-20.
 38. Ковалев, Г.В. Экспериментальное изучение действия фенибута на функциональную устойчивость мозгового кровообращения / Г.В. Ковалев, И.Н. Тюренков, А.Ф. Косицына и др. // Вопросы регуляции мозгового кровообращения: Тез. докл. конф. Кишинев: Штиница, 1983. - С. 87-89.
 39. Ковалева, М.В. Кардиопротекторное действие ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента при генетически обусловленной артериальной гипертензии / М.В. Ковалева // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2011. - Т. 10, № 4. - С. 160-167.
 40. Коркушко, О.В. Особенности влияния стимуляции и блокады бета-адренорецепторов на сердечно-сосудистую систему в пожилом и старческом возрасте / О.В. Коркушко, В.Б. Шатило, Г.З. Мороз и др. // Физиология человека. - 1991. - № 6. - С. 42-50.

41. Коркушко, О.В. Резервные возможности основных функций сердечно-сосудистой системы при старении / О.В. Коркушко, Ю.Т. Ярошенко // Проблемы старения и долголетия. - 2012. - № 2. - С. 119-152.
42. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.Н. Иванова, И.Г. Майорова и др. // Лаб. дело. - 1988. - № 1. - С. 16–19.
43. Костюк, В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутаза, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопр.мед.химии. - 1990. - Т.36, № 2. - С. 88-91.
44. Крыжановский, Г.Н. Дизрегуляторная патология: руководство для врачей и биологов. - М.: Медицина, 2002. - 631 с.
45. Крыжановский, Г.Н. Основы общей патофизиологии. - М.: МИА, 2011. - 256 с.
46. Крыжановский, С.А. Влияние ингибитора металлопротеиназ на ранне постинфарктное ремоделирование в острейшую фазу инфаркта миокарда / С.А. Крыжановский, Е.О. ИONOва, В.Н. Столярук и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013. - Т. 156, № 7. С. 26-32.
47. Кукес, В.Г. Кардиомагнит. Новый взгляд на ацетилсалициловую кислоту: пособие для врачей / В.Г. Кукес, О.Д. Остроумова. М., 2004 - 35 с.
48. Куликов, Ю.В. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани (обзор) / Ю.В. Куликов // Медицина и образование в Сибири. - 2009. - № 4.
49. Лейкок, Дж.Ф. Основы эндокринологии / Дж.Ф. Лейкок, П.Г. Вайс. - М.: Медицина, 2000. - 504 с.
50. Лишманов, Ю.Б. Кардиопротекторные, инотропные и антиаритмические свойства комплексного адаптогенного препарата тонизид / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, А.Г. Арбузов и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2008. - Т. 71, № 3. - С. 15-22.

51. Лишневская, В.Ю. Особенности лечения хронической сердечной недостаточности у лиц пожилого возраста / В.Ю. Лишневская // Научно-практический загальномедицинский журнал. - 2010. - № 6. - С. 87-93.
52. Лишневская, В.Ю. Роль дестабилизации внутрисосудистого гомеостаза в активации клеточного апоптоза при старении / В.Ю. Лишневская, Д.В. Ватлизов, К.Н. Игрунова и др. // Тромбоз гемостаз и реология. - 2010. - № 2. - С. 50-60.
53. Лишневская, В.Ю. Роль свободнорадикального окисления в нарушении гемоваскулярного гомеостаза при старении / В.Ю. Лишневская // Успехи геронтологии. - 2004. - № 13. - С. 52-57.
54. Лішневська, В.Ю. Роль апоптозу в розвитку систолічної дисфункції лівого шлуночка у хворих похилого віку, що перенесли інфаркт міокарда / В.Ю. Лішневська, К.М. Ігрунова, Н.М. Коберник // Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. - 2008. - № 17. - кн. 3. - С. 286-292.
55. Луньшина, Е.В. Влияние лекарственной композиции, содержащей пироглутаминовую кислоту и пирролидон на мозговое кровообращение / Е.В. Луньшина, Т.С. Ганынина, Р.С. Мирзоян // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2002. - Т.65, №3. - С.3-5.
56. Луцк, В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Луцк // Биохимия. - 2007. - Т. 72, № 8. - С. 995-1017.
57. Макарова, Л.М. Влияние производного глутаминовой и аповинкаминовой кислот на метаболизм головного мозга в постишемическом периоде / Л.М. Макарова, М.А. Приходько, В.Е. Погорелый и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2014. - № 2. - С. 12-15.
58. Макарова, Л.М. Сравнительное изучение противогипоксической активности глутаминовой и N-ацетилглутаминовой кислот / Л.М. Макарова, В.Е. Погорелый // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2013. - № 2. - С. 11-14.

59. Максимова, Л.Н. Роль метаболитной терапии в лечении хронической сердечной недостаточности / Л.Н. Максимова, М.Л. Максимов, Я.Р. Нарциссов и др. // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2013. - Т.5, № 9. - С. 577-581.
60. Малышев, И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Биохимия. - 1998. - Т. 63, № 7. - С. 992-1006.
61. Малышев, И.Ю. Стресс-лимитирующая система оксида азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2000. - №10. - С. 1283-1292.
62. Мальцев, А.Н. Влияние эмоционально-болевого стресса на сродство крови к кислороду, состояние антиоксидантной системы и физические свойства микросомальных мембран гепатоцитов / А.Н. Мальцев, А.А. Грекова, Е.А. Киц // Биомедицинская химия. - 2010. - Т.56, № 3. - С. 359-371.
63. Мандельштам, Ю.Е. Влияние фенильных производных глутаминовой и аспарагиновой кислот на нервно-мышечную передачу саранчи *Locusta migratoria* / Ю.Е. Мандельштам, Н.А. Анисимова, Т.В. Вовк и др. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. - 1991. - Т. 27, № 5. - С. 621–625.
64. Манухина, Е.Б. Катехоламины, оксид азота и устойчивость к стрессорным повреждениям: влияние адаптации к гипоксии / Е.Б. Манухина, И.Ю. Малышев, М.Г. Пшенникова и др. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2002. - № 4. - С. 485-495.
65. Манухина, Е.Б. Стресс-лимитирующая система оксида азота / Е.Б. Манухина, И.Ю. Малышев // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2000. - Т. 86, № 10. - С. 1283-1292.
66. Марков, Х.М. Эндогенные ингибиторы оксида азота и их значение в патологии / Х.М. Марков // Российский педиатрический журнал. - 2005. - № 6. - С. 31-35.
67. Маслов, Л.Н. Кардиопротекторные и антиаритмические свойства препаратов *Rhodiola Rosea* / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов //

- Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2007. - Т. 70, № 5. - С. 59-67.
68. Маслов, Л.Н. Кардиопротекторные свойства агонистов каннабиноидных рецепторов / Л.Н. Маслов, А.В. Крылатов // Сибирский медицинский журнал. - 2012. - Т. 27, № 2. - С. 9-14.
69. Матасова, Л.В. Кардиопротекторные свойства некоторых производных бензокс(ти)азолилгуанидинов / Л.В. Матасова, Д.В. Крыльский, Т.Н. Попова и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2008. - Т. 6, № 6. - С. 56-58.
70. Мацко, М.А. Соотношение некоторых медиаторов стрессреализующих и стресслимитирующих систем в остром периоде ишемического инсульта / М.А. Мацко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2004. - № 4. - С. 14-16.
71. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. М.: Медицина, 1988. - 256 с.
72. Меерсон, Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. - 272 с.
73. Меерсон, Ф.З. Стресс-лимитирующие системы организма и новые принципы профилактической кардиологии / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. М.: НПО Союзмединформ, 1989. - 72 с.
74. Меерсон, Ф.З. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца / Ф.З. Меерсон, И.Ю. Малышев. М.: Наука, 1993. - 158с.
75. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшиков, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. М.: «Слово», 2006. - 553 с.
76. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин и др. Новосибирск: АРТА, 2008. - 284 с.
77. Мирзоян, Р.С. Нейропротекторные и цереброваскулярные эффекты ГАМК-миметиков / Р.С. Мирзоян // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2003. - Т. 66, № 2. - С. 53-56.

78. Мирзоян, Р.С. Фармакологический анализ разнонаправленных нейромедиаторных систем регуляции мозгового кровообращения / Р.С. Мирзоян // Медицинская наука Армении. - 2005. - Т. 45, № 3. - С. 35-39.
79. Мокроусов, И.С. Кардипротекторный эффект соединения РГПУ-207 в условиях 30-минутной ишемии миокарда и реперфузии / И.С. Мокроусов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2014. - Т. 51, № 3. - С. 44-46.
80. Молодавкин, Г.М. Влияние фенибута на межполушарное взаимодействие мозга крыс / Г.М. Молодавкин, И.Н. Тюренков, Л.Е. Бородкина // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2009. - № 1. - С. 57-9.
81. Мороз, Б.Б. Актуальные проблемы патофизиологии: избранные лекции / Под ред. Б.Б. Мороза. - М.: Медицина, 2001. - 424 с.
82. Надольник, Л.И. Стресс и щитовидная железа / Л.И. Надольник // Биомедицинская химия. - 2010. - Т. 56, № 4. - С. 443-456.
83. Островская, Р.У. Эволюция проблемы нейропротекции / Р.У. Островская // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2003. - Т. 66, № 2. - С. 32-37.
84. Парахонский, А.П. Кардиопротекторные эффекты индуцируемой NO-синтетазы / А.П. Парахонский // Современные наукоемкие технологии. - 2010. - № 9. - С. 207-208.
85. Парахонский, А.П. Роль нейрональной NO-синтетазы в патологии сердца / А.П. Парахонский // Современные наукоемкие технологии. - 2010. - № 9. - С. 208-208.
86. Перфилова, В.Н. Влияние соединения РГПУ-147 на морфофункциональное состояние миокарда животных после длительного стрессорного воздействия / В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков, А.В. Смирнов // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. - 2010. - № 4. - С. 45-49.
87. Перфилова, В.Н. Влияние феруловой кислоты и фенибута на сократительные свойства миокарда при острой алкогольной интоксикации /

- В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков // Вестник ВолГМУ. - 2006. - № 2. - С. 55-58.
88. Перфилова, В.Н. Влияние цитрокарда на функциональные резервы сердца в условиях хронического стрессорного воздействия / В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков, С.А. Лебедева и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. - № 7. - С. 24-28.
89. Перфилова, В.Н. Кардиопротекторные свойства производных ГАМК в условиях острой алкогольной интоксикации / В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков, В.М. Берестовицкая и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2006. - Т. 69, № 4. - С. 23-27.
90. Перфилова, В.Н. Кардиопротекторные свойства структурных аналогов ГАМК: дисс. ... д-ра биол. наук / Перфилова Валентина Николаевна. - Волгоград, 2009. - 348 с.
91. Перфилова, В.Н. Кардиопротекторные свойства структурных аналогов ГАМК: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Перфилова Валентина Николаевна. - Волгоград, 2009. - 86 с.
92. Перфилова, В.Н. Роль ГАМК-ергической системы в ограничении стрессорного повреждения миокарда / В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2005. - Т. 4, № 1. - С. 21-26.
93. Петров, В.И. Современные направления исследований и клинического применения глутаматергических средств / В.И. Петров, Н.В. Онищенко // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2002. - Т.65, № 4. - С. 66-70.
94. Преображенский, Д.В. Хроническая сердечная недостаточность у лиц пожилого возраста: особенности этиопатогенеза и медикаментозного лечения / Д.В. Преображенский, Б.А. Сидоренко, Е.В. Тарыкина и др. // Consilium Medicum. - 2005. - Т. 7, № 12. - С. 23-26.
95. Прохоренко, И.О. Влияние стресса на состояние микроциркуляции и кислотно-основной гомеостаз у лиц старших возрастных групп / И.О.

- Прохоренко, Е.Г. Зарубина, О.С. Сергеев // Фундаментальные исследования. - 2001. - № 10. - С. 363-366.
96. Пшенникова, М.Г. Роль опиоидных пептидов в реакции организма на стресс / М.Г. Пшенникова // Пат. Физиол. - 1987. - № 3. - С. 85-90.
 97. Пшенникова, М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2000. - № 2. - С. 24-31.
 98. Сайгитов, Р.Т. Сердечно-сосудистые заболевания в контексте социально-экономических приоритетов долгосрочного развития России / Р.Т. Сайгитов, А.А. Чулок // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2015. - Т. 70, № 3. - С. 286-299.
 99. Самаль, А.Б. Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы / А.Б.Самаль, С.И. Черенкевич, Н.Ф. Хмара. М.: Университетское, - 1990. - 104 с.
 100. Самотруева, М.А. Оценка иммунокорригирующей активности фенибута / М.А. Самотруева, А.Н. Овчарова, И.Н. Тюренков // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - № 3. - С. 168-169.
 101. Сапожков, А.В. Возможности фармакологической защиты миокарда при остром коронарном поражении. Ишемические и постишемические расстройства циркуляции / А.В. Сапожков. - Кемерово. - 1984. - С. 51-60.
 102. Селье, Г. Стресс без дистресса. - М: Прогресс, 1979. - 123 с.
 103. Сомова, Л.М. Оксид азота как медиатор воспаления / Л.М. Сомова, Н.Г. Плехова // Вестник ДВО РАН. - 2006. - № 6. - С. 7-80.
 104. Сосунов, А.А. Оксид азота как межклеточный посредник / А.А. Сосунов // Соровский образовательный журнал. - 2000. - Т. 6. - С. 27-34.
 105. Спасов, А.А. Сравнительная оценка влияния стереоизомеров и рацемата карнитина на показатели кардио- и гемодинамики у крыс в условиях карнитиндефицитной диеты / А.А. Спасов, И.Н. Иежица, И.Н. Тюренков и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2006. - № 7. - С. 20-27.

106. Стальная, И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. - С. 66-68.
107. Стражеско, И.Д. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система и старение сосудов / И.Д. Стражеско, Д.У. Акашева, Е.Н. Дудинская и др. // Кардиология, - 2013. - № 7. - С. 78-84.
108. Табакаев, М.В. Урбанизация и сердечно-сосудистые заболевания в современном обществе / М.В. Табакаев, Г.В. Артамонова // Российский кардиологический журнал. - 2015. - Т. 122, № 6. - С. 94-99.
109. Терской, И.А., Гительзон И.И. О механизме гемолиза / Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Красноярск, 1961. - № 2. - С. 3-5.
110. Торкунов, П.А. Действие нового производного таурина при различных вариантах гипоксических состояний / П.А. Торкунов, Н.С. Сапронов // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2000. - Т. 63, № 1. - С. 37-40.
111. Тюренков, И.Н. Влияние фенибута на содержание моноаминов и их метаболитов, а также нейротрансмиттерных аминокислот в структурах мозга крыс / И.Н. Тюренков, В.С. Кудрин, В.Б. Наркевич и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2009. - № 1. - С. 60-63.
112. Тюренков, И.Н. Депрессивное состояние у крыс при хроническом комбинированном стрессе, вызванном сочетанием разномодальных стрессоров / И.Н. Тюренков, В.В. Багметова, Ю.В. Чернышева и др. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2013. - Т. 99, № 9. - С. 1045-1056.
113. Тюренков, И.Н. Изменения функционирования системы микроциркуляции под влиянием нового производного ГАМК-соединения РГПУ-147 при хроническом стрессорном воздействии / И.Н. Тюренков, С.А. Лебедева, В.Н. Перфилова и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2007. - № 4. - С. 64-67.

114. Тюренков, И.Н. Иммуотропная активность фенотропила и его композиции с глутаминовой кислотой / И.Н. Тюренков, В.М. Берестовицкая, О.С. Васильева и др. // Фармация. - 2010. - № 8. - С. 38-40.
115. Тюренков, И.Н. Кардио- и церебропротекторное действие новых структурных аналогов ГАМК / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, Л.Е. Бородкина и др. // Вестник Волгоградской медицинской академии. - 2000. - № 6. - С.52-56.
116. Тюренков, И.Н. Роль ГАМК-ергической системы мозга в регуляции кровообращения / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2001. - № 6. - С. 68-72.
117. Тюренков, И.Н. Сравнение психотропных свойств глутаминовой кислоты и ее нового производного – гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты (глутарона) / И.Н. Тюренков, В.В. Багметова, Ю.В. Чернышева и др. // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 3. - С. 167-172.
118. Тюренков, И.Н. Средство, обладающее антидепрессантным, анксиолитическим, нейропротекторным и иммуностимулирующим действием / И.Н. Тюренков, В.В. Багметова // Патент РФ № 2429834, заявл. 23.07.2010, опубл. 27.09.2011. - Бюл. 27. - 2011.
119. Тюренков, И.Н. Фенибут и его цитрат в предупреждении психоневрологических нарушений, вызванных хроническим стрессом - лишением парадоксальной фазы сна / И.Н. Тюренков, В.В. Багметова, Л.Е. Бородкина и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2012. - № 6. - С. 8-13.
120. Тюренков, И.Н., Гурбанов К.Г. В кн. достижения современной экспериментальной фармакологии сердечно-сосудистой системы. Воронеж, 1981. - С. 50-66.
121. Тюренков, И.Н., Перфилова В.Н. Кардиоваскулярные и кардиопротекторные свойства ГАМК и ее аналогов. Волгоград: Изд. ВолгГМУ, 2008. - 204 с.

122. Удинцев, Н.А. Антиоксидантное действие глутаминовой кислоты / Н.А. Удинцев, В.В. Иванов // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1984. - Т. 28, № 4. - С. 60-62.
123. Ушкалова, В.Н. Контроль перекисного окисления липидов / В.Н. Ушкалова, Н.В. Иоанидис, Г.Д. Кадочникова и др. Новосибирск: Изд. Новосибирского университета, 1993. - 181 с.
124. Филатова, Н.М. Антиишемическая эффективность N-замещенного производного глутамата при курсовом пероральном введении / Н.М. Филатова, Д.С. Блинов, В.П. Балашов, Е.В. Блинова, С.Н. Якушкин // Материалы XXXVIII научной конференции «Огаревские чтения» Мордов. ун-та. Вып. 5. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2009. – С. 28-30.
125. Филатова, Н.М. Изучение антиаритмического действия производного глутаминовой кислоты деанола ацеглумата на фоне сахарного диабета в эксперименте / Н.М. Филатова, Е.Д. Гогина, Е.В. Блинова, Д.С. Блинов // Вестник аритмологии. – 2012. - №68. – С. 50-54.
126. Филатова, Н.М. Противоаритмическое действие производных глутаминовой кислоты при экспериментальной ишемии миокарда / Д.С. Блинов, С.Н. Якушкин, Е.В. Блинова, Н.Д. Волкова // Материалы XXXIX научной конференции «Огаревские чтения» Мордов. университета. Вып. 4. – Саранск: Изд. Мордов. университета, 2010. - С. 56-57.
127. Фролькис, В.В. Старение и экспериментальная возрастная патология сердечно-сосудистой системы / В.В. Фролькис, В.В. Безруков, О.К. Кульчицкий. Киев: Наук. Думка, 1994. - 248 с.
128. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, 2 изд. - М., 2005.
129. Хазанов, В.А. Кардиопротекторные свойства триметазидина и комбинации янтарной и яблочной кислот при острой ишемии миокарда / В.А. Хазанов, А.А. Киселева, К.Ю. Васильев и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2009. - Т. 147, № 4. - С. 395-400.

130. Хугаева, В.К. Микроциркуляция при хроническом стрессе / В.К. Хугаева, А.В. Ардасенов // Мезотерапия. - 2012. - №18.
131. Чернышева, Ю.В. Влияние нового производного глутаминовой кислоты на поведение животных с «выученной беспомощностью» / Ю.В. Чернышева, Д.Д. Бородин, Ю.К. Ли и др. // Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств». - Волгоград: Издательство ВолгГМУ, 2012. - С. 137-138.
132. Чукаева, И.И. Кардиопротекция в лечении больных артериальной гипертонией - роль лозартана / И.И. Чукаева, Я.Г. Спирякина // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2013. - Т. 9, № 6. - С. 660-663.
133. Шабанов, П.Д. Нейрохимические механизмы прилежащего ядра, реализующие подкрепляющие эффекты самостимуляции латерального гипоталамуса / Шабанов П.Д., Лебедев А.А. // Медицинский Академический журнал. - 2012. - Т. 12, № 2. - С. 68-76.
134. Шабанов, П.Д. Участие ГАМК- и дофаминергических механизмов ядра ложа конечной полоски в подкрепляющих эффектах психотропных средств, реализуемых через латеральный гипоталамус / П.Д. Шабанов, А.А. Лебедев // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2011. - Т. 97, № 8. - С. 804–813.
135. Шмерельсон, М.Б. Предишемическая защита сердца глутаминовой кислотой в условиях искусственного кровообращения / М.Б. Шмерельсон, Г.А. Бояринов, В.В. Пичурин // Анестезиология и Реаниматология. - 1990. - № 2. - С. 3-7.
136. Якушкин, С.Н. Влияние антиоксидантов на антиаритмическую активность некоторых производных местных анестетиков / С.Н. Якушкин, Д.С. Блинов, Е.В. Блинова и др. // Материалы международной IX научно-практич. конференции «Здоровье и образование в XXI веке». - Дели, 2009. - С. 230-231.

137. Agrawal, A.K. Constitutive and inducible hepatic cytochrome P450 in senescent male and female rats and response on low dose Phenobarbital / A.K. Agrawal, B.H. Shapiro // *Drug Metabolism Dispos.* - 2003. - Vol. 31. - P. 612-619.
138. Alvarez, S. Mitochondrial nitric oxide metabolism in rat muscle during endotoxemia / S. Alvarez, A. Boveris // *Free Radic. Biol. Med.* - 2004. - Vol. 37, № 9. - P. 1472–1478.
139. Antonius, M. VanDongen. *Biology of the NMDA Receptor* (Frontiers in Neuroscience). - Boca Raton: CRC, 2008.
140. Atochin, D.N. Endothelial nitric oxide synthase transgenic models of endothelial dysfunction / D.N. Atochin, P.L. Huang // *Pflugers Arch.* - 2010. - Vol. 460, № 6. - P. 965-974.
141. Bacon, S.L. Changes in plasma volume associated with mental stress ischemia in patients with coronary artery disease / S.L. Bacon, A. Sherwood, A.L. Hinderliter et al. // *Int. J. Psychophysiol.* - 2006. - Vol. 61. - P. 143–148.
142. Benigni, A. Disruption of the Ang II type 1 receptor promotes longevity in mice / A. Benigni, D. Corna, C. Zoja et al. // *J. Clin. Invest.* - 2009. - Vol. 119, № 3. - P. 524-530.
143. Besse, S. Normal and hypertrophied senescent rat heart: mechanical and molecular characteristics / S. Besse, P. Assayag, C. Delcayre et al. // *Am. J. Physiol.* - 1993. - Vol. 265, № 1. - P. 183-190.
144. Bian, J.S. Immobilization stress induced changes of ventricular electric stability in damaged heart depends on the extent of free radical damage / J.S. Bian, Y.L. Wang, D.X. Li // *Acta physiologica sinica.* – 1997. - № 5. - P. 526-530.
145. Blacktop, J.M. Antagonism of GABA-B but not GABA-A receptors in the VTA prevents stress- and intra-VTA CRF-induced reinstatement of extinguished cocaine seeking in rats / J.M. Blacktop, O. Vranjkovic, M. Mayer et al. // *Neuropharmacology.* - 2016. - № 102. - P. 197-206.
146. Bolli, R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade

- of research / R. Bolli // J. Mol. Cell. Cardiol. - 2001. - Vol. 33, № 11. - P. 1897-1918.
147. Bradesi, S. Role of spinal microglia in visceral hyperalgesia and NK1R up-regulation in a rat model of chronic stress / S. Bradesi, C.I. Svensson, J. Steinauer et al. // Gastroenterology. - 2009. - Vol. 136, № 4. - P. 1339-1348.
 148. Brydon, L. Psychological stress activates interleukin-1 β gene expression in human mononuclear cells / L. Brydon, S. Edwards, H. Jia et al. // Brain Behav Immun. - 2005. - Vol. 19, № 6. - P. 540-546.
 149. Buchwalow, I.B. Inducible nitric oxide synthase in the myocardium / I.B. Buchwalow, W. Schulze, P. Karczewski et al. // Mol. Cell. Biochem. - 2001. - Vol. 217, № 1. - P. 73-82.
 150. Cao, X.J. Alteration of messenger RNA and protein levels of cardiac α 1-adrenergic receptor and angiotensin II receptor subtypes during aging in rats / X.J. Cao, Y.F. Li // Can. J. Cardiol. - 2009. - Vol. 25, № 7. - P. 415-420.
 151. Carrasco, G.A. Neuroendocrine pharmacology of stress / G.A. Carrasco, L.D. Van De Kar // Eur. J. Pharmacol. - 2003. - № 463. - P. 235-272.
 152. Champion, S. Stress (Tako-tsubo) cardiomyopathy in critically-ill patients / S. Champion, D. Belcour, D. Vandroux et al. // Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care. - 2015. - Vol. 4, № 2. - P. 189-196.
 153. Chen, F. p38 MAP kinase inhibitor reverses stress-induced myocardial dysfunction in vivo / F. Chen, H. Kan, G. Hobbs et al. // J. Appl. Physiol. - 2009. - Vol. 106, № 4. - P. 1132-1141.
 154. Chen, P. Neurokinin 1 receptor mediates membrane blebbing and shear stress-induced microparticle formation in HEK293 cells / P. Chen, S.D. Douglas, J. Meshki et al. // PLoS One. - 2012. - Vol. 7, № 9.
 155. Chen, Y.T. Risk factors for heart failure in the elderly: a prospective community-based study / Y.T. Chen, V. Vaccarino, C.S. Williams et al. // Am. J. Med. - 1999. - Vol. 106, № 6. - P. 605-612.

156. Claire, H.F. NK1 receptor expressing paraventricular nucleus neurones modulate daily variation in heart rate and stress induced changes in heart rate variability / H.F. Claire, R.B. Jolley // *Physiol. Rep.* - 2014. - Vol. 2, № 12.
157. Cohen, R. Effect of Physical Activity on the Relation Between Psychosocial Factors and Cardiovascular Events (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) / R. Cohen, N.C. Gasca, R.L. McClelland et al. // *Am. J. Cardiol.* - 2016. - № 2.
158. Colucci, R. Oxidative stress and immune system in vitiligo and thyroid diseases / R. Colucci, F. Dragoni, S. Moretti // *Oxid. Med. Cell. Longev.* - 2015. - Vol. 2015.
159. Cordellini, S. Decreased endothelium-dependent vasoconstriction to noradrenaline in acute-stressed rats is potentiated by previous chronic stress: nitric oxide involvement / S. Cordellini, V.S. Vassilieff // *Gen. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 30, № 1. - P. 79-83.
160. Crump, C. Low stress resilience in late adolescence and risk of hypertension in adulthood / C. Crump, J. Sundquist, M.A. Winkleby et al. // *Heart.* - 2016. - Vol. 102, № 7. - P. 541-547.
161. Cui, H. Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging / H. Cui, Y. Kong, H. Zhang // *Journal of Signal Transduction.* - 2012.
162. Cuisset, T. Usefulness of index of microcirculatory resistance to detect microvascular dysfunction as a potential mechanism of stress-induced cardiomyopathy (Tako-tsubo syndrome) / T. Cuisset, J. Quilici, M. Pankert et al. // *Int. J. Cardiol.* - 2011. - Vol. 153, № 3. - P. 51-53.
163. Curtis, A.L. Evidence for functional release of endogenous opioids in the locus ceruleus during stress termination / A.L. Curtis, N.T. Bello, R.J. Valentino // *J. Neurosci.* - 2001. - Vol. 21. - P. 1-5.
164. Dai, D.F. Cardiac aging in mice and humans: the role of mitochondrial oxidative stress / D.F. Dai, P.S. Rabinovitch // *Trends Cardiovasc. Med.* - 2009. - Vol. 19, № 7. - P. 213-220.

165. De Paula, J.G. Management of multivessel coronary disease after primary angioplasty: staged reintervention versus optimized clinical treatment and two-year follow-up / J.G. De Paula, M.F. de Godoy, M.A. Santos et al. // *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.* - 2014. - № 29. - P. 177-85.
166. Delgado-Morales, R. Adrenocortical and behavioural response to chronic restraint stress in neurokinin-1 receptor knockout mice / R. Delgado-Morales, Eva del Río, A. Gómez-Román et al. // *Physiol. Behav.* - 2012. - Vol. 105, № 3. - P. 669-675.
167. Derian, W. Stress-induced cardiomyopathy: not always apical ballooning / W. Derian, D. Soundarraj, M.J. Rosenberg // *Rev. Cardiovasc. Med.* - 2007. - Vol. 8. - P. 228-233.
168. Devaki, M. Chronic stress-induced oxidative damage and hyperlipidemia are accompanied by atherosclerotic development in rats / M. Devaki, R. Nirupama, H.N. Yajurvedi // *Stress.* - 2013. - Vol. 16, № 2. - P. 233-243.
169. Dobashi, K. Modulation of endogenous antioxidant enzymes by nitric oxide in rat C6 glial cells / K. Dobashi, K. Pahan, A. Chahal et al. // *J. Neurochem.* - 1997. - Vol. 68, № 5. - P. 1896-1903.
170. Filaretova, L. Does chronic stress enhance the risk of diseases? / L. Filaretova, O. Morozova, F. Laszlo et al. // *Endocrine Regulations.* - 2013. - Vol. 47, № 4. - P. 177-188.
171. Fontes, M.A. Brain angiotensin-(1-7)/Mas axis: A new target to reduce the cardiovascular risk to emotional stress / M.A. Fontes, A. Martins Lima, R.A. Santos // *Neuropeptides.* - 2016. - Vol. 56. - P. 9-17.
172. Fulda, S. Cellular Stress Responses: Cell Survival and Cell Death International / S. Fulda, A.M. Gorman, O. Hori et al. // *J. Cell. Biol.* - 2010. - Vol. 2010. - 23 p.
173. Gadek-Michalska, A. Chronic stress adaptation of the nitric oxide synthases and IL-1 β levels in brain structures and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity induced by homotypic stress / A. Gadek-Michalska, J. Tadeusz, P. Rachwalska et al. // *J. Physiol. Pharmacol.* - 2015. - Vol. 66, № 3. - P. 427-440.

174. Gądek-Michalska, A. Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stress-response systems / A. Gądek-Michalska, J. Tadeusz, P. Rachwalska et al. // Pharmacol. Rep. - 2013. - Vol. 65, № 6. - P. 1655-1662.
175. Gasulla, J. Enhancement of tonic and phasic GABAergic currents following nitric oxide synthase inhibition in hippocampal CA1 pyramidal neurons / J. Gasulla, D.J. Calvo // Neurosci Lett. - 2015. - Vol. 17, № 590. - P. 29-34.
176. Gealekman, O. Role of myocardial inducible nitric oxide synthase in contractile dysfunction and beta-adrenergic hyporesponsiveness in rats with experimental volume-overload heart failure / O. Gealekman, Z. Abassi, I. Rubinstein et al. // Circulation. - 2002. - Vol. 105, № 2. - P. 236-243.
177. Givvimani, S. Role of mitochondrial fission and fusion in cardiomyocyte contractility / S. Givvimani, S.B. Pushpakumar, N. Metreveli et al. // Int. J. Cardiol. - 2015. - Vol. 187. - P. 325-333.
178. Glazachev, O.S. The microcirculatory blood flow and autonomic regulation's functional state in young people with different levels of subjectively experienced psychological stress / O.S. Glazachev, E.N. Dudnik // Fiziol. Cheloveka. - 2012. - Vol. 38, № 5. - P. 50-57.
179. Goddard, A.W. Cortical and subcortical gamma amino acid butyric acid deficits in anxiety and stress disorders: Clinical implications / A.W. Goddard // World J. Psychiatry. - 2016. - Vol. 6, № 1. - P. 43-53.
180. Goshen, I. Interleukin-1 (IL-1): A central regulator of stress responses / I. Goshen, R. Yirmiya // Frontiers in Neuroendocrinology. - 2009. - Vol. 30. - P. 30-45.
181. Groc, L. NMDA receptor surface trafficking and synaptic subunit composition are developmentally regulated by the extracellular matrix protein Reelin / L. Groc, D. Choquet, F.A. Stephenson et al. // J. Neurosci. - 2007. - Vol. 27, № 38. - P. 10165–10175.
182. Gulati, K. Involvement of nitric oxide (NO) in the regulation of stress susceptibility and adaptation in rats / K. Gulati, A. Ray, A. Masood et al. // Indian J. Exp. Biol. - 2006. - Vol. 44. - P. 809-815.

183. Gunn, B.G. GABA A receptor-acting neurosteroids: A role in the development and regulation of the stress response / B.G. Gunn, L. Cunningham, S.G. Mitchell // *Frontiers in Neuroendocrinology*. - 2015. - Vol. 36. - P. 28-48.
184. Hasbani, M.J. Dendritic spines lost during glutamate receptor activation reemerge at original sites of synaptic contact / M.J. Hasbani, M.L. Schlieff, D.A. Fisher et al. // *J. Neurosci.* - 2001. - Vol. 21.
185. Helmreich, D.L. Thyroid hormone regulation by stress and behavioral differences in adult male rats / D.L. Helmreich, D. Tylee // *Horm. Behav.* - 2011. - Vol. 60, № 3. - P. 284-291.
186. Herbert, J. Do corticosteroids damage the brain? / J. Herbert, I.M. Goodyer, A.B. Grossman et al. // *Journal of Neuroendocrinology*. - 2006. - Vol. 18. - P. 393-411.
187. Higashi, Y. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases / Y. Higashi, K. Noma, M. Yoshizumi et al. // *Circ. J.* - 2009. - Vol. 73, № 3. - P. 411-418.
188. Hua, Y. Chronic Akt activation accentuates aging-induced cardiac hypertrophy and myocardial contractile dysfunction: role of autophagy / Y. Hua, Y. Zhang, A.F. Ceylan-Isik et al. // *Basic Res. Cardiol.* - 2011. - Vol. 106, № 6. - P. 1173-1191.
189. Hynd, M. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimers disease / M. Hynd, H.L. Scott, P. Dodd // *Neurochemistry International*. - 2004. - Vol. 45, № 5. - P. 583-595.
190. Ikeda, Y. Insights into the Role of Mitochondrial Dynamics and Autophagy during Oxidative Stress and Aging in the Heart / Y. Ikeda, S. Sciarretta, N. Nagarajan et al. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. - 2014.
191. Ikonomidou, H. New use of glutamate antagonists for the treatment of cancer / H. Ikonomidou // *Eur. Pat. Appl.* - 1998. - P. 21.
192. Inan, B. Are increased oxidative stress and asymmetric dimethylarginine levels associated with masked hypertension? / B. Inan, I. Ates, N. Ozkayar et al. // *Clin. Exp. Hypertens.* - 2016. - №3. - P. 1-5.

193. Inoue, N. Stress and atherosclerotic cardiovascular disease / N.J. Inoue // *Atheroscler. Thromb.* - 2014. - Vol. 21, № 5. - P. 391-401.
194. Jain, M. Serial evaluation of microcirculatory dysfunction in patients with Takotsubo cardiomyopathy by myocardial contrast echocardiography / M. Jain, S. Upadaya, S.W. Zarich // *Clin. Cardiol.* - 2013. - Vol. 36, № 9. - P. 531-534.
195. Jessop, D.S. Substance P is involved in terminating the hypothalamo-pituitaryadrenal axis response to acute stress through centrally located neurokinin- 1 receptors / D.S. Jessop, D. Renshaw, P.J. Larsen et al. // *Stress.* - 2000. - Vol. 3, P. 209-220.
196. Kamal, E. Chrousos. Neuroendocrinology of stress / E. Kamal, M.D. Habib, W. Philip et al. // *Endocrinology and Metabolism Clinics.* - 2001. - Vol. 30, № 3. - P. 695-728.
197. Kamran, M. GABA-induced vasorelaxation mediated by nitric oxide and GABAA receptor in non diabetic and streptozotocin-induced diabetic rat vessels / M. Kamran, A. Bahrami, N. Soltani et al. // *Physiol. Bio-phys.* - 2013. - Vol. 32. - P. 101-106.
198. Kato, H. Stress responses from the endoplasmic reticulum in cancer / H. Kato, H. Nishitoh // *Front Oncol.* - 2015. - Vol. 5. - 93 p.
199. Katoh, M. Effects of the antiplatelet agent TA-993 and its metabolite MB3 on the hemorheological properties of rat and human erythrocytes / M. Katoh, T. Karasawa, H. Doi et al. // *Thromb. Res.* - 2001. - № 104. - P. 105-112.
200. Khan, M. Upregulation of arginase-II contributes to decreased age-related myocardial contractile reserve / M. Khan, J. Steppan, K.H. Schuleri et al. // *Eur. J. Appl. Physiol.* - 2012. - Vol. 112, № 8. - P. 2933-2941.
201. Khan, S.A. Neuronal nitric oxide synthase negatively regulates xanthine oxidoreductase inhibition of cardiac excitation-contraction coupling / S.A. Khan, K. Lee, K.M. Minhas et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* - 2004. - Vol. 101. - P. 15944-15948.
202. Khanna, D. Emotional stress and reversible myocardial dysfunction / D. Khanna, H. Kan, C. Failing et al. // *Cardiovasc. Toxicol.* - 2006. - Vol. 6. - P. 183-198.

203. Kirby, L.G. Effects of corticotropinreleasing factor on neuronal activity in the serotonergic dorsal raphe nucleus / L.G. Kirby, K.C. Rice, R.J. Valentino // *Neuropsychopharmacology*. - 2000. - Vol. 22. - P. 148-162.
204. Kong, Y. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and the mitochondria theory of aging / Y. Kong, S.E. Trabucco, H. Zhang // *Interdiscip. Top Gerontol.* - 2014. - Vol. 39. - P. 86-107.
205. Kop, W.J. Effects of environmental stress following myocardial infarction on behavioral measures and heart failure progression: The influence of isolated and group housing conditions / W.J. Kop, T.F. Galvao, S.J. Synowski et al. // *Physiol. Behav.* - 2015. - Vol. 152. - P. 168-174.
206. Krenek, P. Isoproterenol-induced heart failure in the rat is associated with nitric oxide-dependent functional alterations of cardiac function / Krenek P., Kmecova J., Kucerova D. et al. // *Eur. J. Heart. Fail.* - 2009. - Vol. 11, № 2. - P. 140-146.
207. Kuhn, M. Neuroplasticity and memory formation in major depressive disorder: an imaging genetics perspective on serotonin and BDNF / M. Kuhn, A. Popovic, L. Pezawas // *Restor. Neurol. Neurosci.* - 2014. - Vol. 32, № 1. - P. 25-49.
208. Kwak, H.B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart / Kwak H.B. // *J. Exer. Rehabil.* - 2013. - Vol. 9, № 2. - P. 212-219.
209. Lakatta, E.G. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease / E.G. Lakatta, D. Levy // *Circulation*. - 2003. - Vol. 107, № 2. - P. 346-354.
210. Lakatta, E.G. Heart aging: a fly in the ointment / Lakatta E.G. // *Circ.Res.* - 2001. - Vol. 88. - P. 984-986.
211. Lakatta, E.G. The old heart: operation on the edge / E.G. Lakatta, S.J. Sollott, S. Pepe // *Novartis. Found. Symp.* - 2001. - Vol. 235. - P. 172-196.
212. Lampert, R. Behavioral influences on cardiac arrhythmias / R. Lampert // *Trends Cardiovasc. Med.* - 2016. - Vol. 26, № 1. - P. 68-77.
213. Lampert, R. ECG signatures of psychological stress / R. Lampert // *J. Electrocardiol.* - 2015. - Vol. 48, № 6. - P. 1000-1005.

214. Lanza, I.R. Functional assessment of isolated mitochondria in vitro / I.R. Lanza, K.N. Sreekumaran // *Methods Enzymol.* - 2009. - Vol. 457. - P. 349-372.
215. Lee, Y.P. Diverse clinical spectrum of stress-induced cardiomyopathy / Y.P. Lee, K.K. Poh, C.H. Lee et al. // *Int. J. Cardiol.* - 2008. - Vol. 133, № 2. - P. 272-275.
216. Li, Y. Nitric oxide inhibits the firing activity of hypo-thalamic paraventricular neurons that innervate the medulla oblongata: Role of GABA / Y. Li, W. Zhang, J.E. Stern // *Neuroscience.* - 2003. - Vol. 118, № 3. - P. 585-601.
217. Li, Y.Q. Central origins of substance P-like immunoreactive fibers and terminals in the spinal trigeminal caudal subnucleus in the rat / Y.Q. Li, Z.M. Wang, H.X. Zheng et al. // *Brain Res.* - 1996. - Vol. 719. - P. 219-224.
218. Lin, J. Age-related cardiac muscle sarcopenia: Combining experimental and mathematical modeling to identify mechanisms / J. Lin, E.F. Lopez, Y. Jin et al. // *Exp. Gerontol.* - 2008. - Vol. 43, № 4. - P. 296-306.
219. Liu, C.N. Effects of SNP, GLU and GABA on the neuronal activity of striatum nucleus in rats / C.N. Liu, X. Liu, D. Gao et al. // *Pharmacol. Res.* - 2005. - Vol. 51, № 6. - P. 547-551.
220. Liu, Y.W. Propofol stimulates noradrenalin-inhibited neurons in the ventrolateral preoptic nucleus by reducing GABAergic inhibition / Y.W. Liu, W. Zuo, J.H. Ye // *Anesth. Analg.* - 2013. - Vol. 117, № 2. - P. 358-363.
221. Lorenza, E. Stress and aging induce distinct polyQ protein aggregation states / E. Lorenza, M. Mazzeo, D. Dersh et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* - 2012. - Vol. 109, № 26. - P. 10587-10592.
222. Lown, B. Psychophysiologic factors in sudden cardiac death / B. Lown, R. DeSilva, P. Reich // *Amer. J. Psychiatr.* - 1980. - Vol. 137, - № 11. - P. 1325-1335.
223. Luisi, S. Neuroendocrine and stress-related aspects of endometriosis / S. Luisi, A. Pizzo, S. Pinzauti et al. // *Neuro Endocrinol. Lett.* - 2015. - Vol. 36, № 1. - P. 15-23.

224. Mahar, I. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects / I. Mahar, F.R. Bambico, N. Mechawar et al. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* - 2014. - Vol. 38. - P. 173-192.
225. Marilyn, S.C. Human stress cardiomyopathy / S.C. Marilyn, S.H. Charles // *Human Pathology.* - 1980. - Vol. 11. - P. 123-132.
226. McBryde, F.D. Chronic knockdown of nNOS in the paraventricular nucleus (PVN) produces persistent increases in arterial pressure and renal sympathetic nerve activity (RSNA) in the rat / F.D. McBryde, B.Liu, S. Kasparov et al. // *The FASEB Journal.* - 2011. - Vol. 25. - P. 1078.
227. McEntee, W.J. «Glutamate: Its role in learning, memory, and the aging brain» / W.J. McEntee, T.H. Crook // *Psychopharmacology.* - 1993. - Vol. 111, № 4. - P. 391-401.
228. Meerson, F.Z. Pathogenesis and Prophylaxis of Cardiac Lesions in Stress. / F.Z. Meerson // *Advances in Myocardiology.* - 1983. - Vol. 4. - P. 3-21.
229. Menabde, K.O. Tissue specificity of lipid peroxidation under emotional stress in rats / K.O. Menabde, G.M. Burdzhanadze, M.V. Chachua et al. // *Ukr. Biokhim. Zh.* - 2011. - Vol. 83, № 3. - P. 85-90.
230. Merksamer, I.P. The sirtuins, oxidative stress and aging: an emerging link / I.P. Merksamer, Y. Liu, W. He et al. // *Aging (Albany NY).* - 2013. - Vol. 5, № 3. - P. 144-150.
231. Mickey, B.J. Emotion Processing, Major Depression, and Functional Genetic Variation of Neuropeptide Y / B.J. Mickey, Z. Zhou, M.M. Heitzeg et al. // *Archives of General Psychiatry.* - 2011. - Vol. 68, № 2. - P. 158.
232. Miller, D. Neuroendocrine aspects of the response to stress / D. Miller, J. O'Callaghan // *Metabolism.* - 2002. - Vol. 51. - P. 5-10.
233. Morales-Medina, J.C. A possible role of neuropeptide Y in depression and stress / J.C. Morales-Medina, Y. Dumont, R. Quirion // *Brain Res.* - 2010. - Vol. 1314. - P. 194-205.
234. Morrow, A.L. Effects of progesterone or neuroactive steroid? / A.L. Morrow, M.J. Van Doren, L.L. Devaud // *Nature.* - 1998. - Vol. 395, № 6703. - P. 652-653.

235. Muller-Strahl, G. Inhibition of nitric oxide synthase augments the positive inotropic effect of nitric oxide donors in the rat heart / G. Muller-Strahl, K. Kottenberg, H.G. Zimmer et al. // *Journal of Physiology*. - 2000. - Vol. 522. - P. 311-320.
236. Nguyen, C.T. The age-related alterations of cardiac tissues microstructure and material properties in Fischer 344 rats / C.T. Nguyen, C.S. Hall, M.J. Scott et al. // *Ultrasound Med. Biol.* - 2001. - Vol. 27, № 5. - P. 611-619.
237. Okano, S. Effects of TAK-637, a novel neurokinin-1 receptor antagonist, on colonic function in vivo / S. Okano, H. Nagaya, Y. Ikeura et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 2001. - Vol. 298. - P. 559-564.
238. Olivenza, R. Chronic stress induces the expression of inducible nitric oxide synthase in rat brain cortex / R. Olivenza, M.A. Moro, I. Lizasoain et al. // *J. Neurochem.* - 2000. - Vol. 74, № 2. - P. 785-791.
239. Opthof, T. The normal range and determinants of the intrinsic heart rate in man / T. Opthof // *Cardiovasc. Res.* - 2000. Vol. 45, № 1. - P. 177-184.
240. Pal, R. Pharmacological and biochemical studies on the role of free radicals during stress-induced immunomodulation in rats / R. Pal, K. Gulati, B. Banerjee et al. // *Int. Immunopharmacol.* - 2011. - Vol. 11, № 11. - P. 1680-1684.
241. Paneni, F. Role of oxidative stress in endothelial insulin resistance / F. Paneni, S. Costantino, F. Cosentino // *World J. Diabetes.* - 2015. - Vol. 6, № 2. - P. 326-332.
242. Partridge, J.G. Stress Increases GABAergic Neurotransmission in CRF Neurons of the Central Amygdala and Bed nucleus Stria Terminalis / J.G. Partridge, P.A. Forcelli, R. Luo et al. // *Neuropharmacology*. - 2016. - Vol. 107. - P. 239-250.
243. Penninger, J. *The Gene Knockout Facts book*. – 1998. - 293 p.
244. Pertsov, S.S. Intensity of oxidative and antioxidant processes in the brain of rats with various behavioral characteristics during acute stress / S.S. Pertsov, E.V. Koplik, L.S. Kalinichenko // *Bull. Exp. Biol. Med.* - 2011. - Vol. 152, № 1. - P. 1-4.

245. Pietersen, H.G. Glutamate metabolism of the heart during coronary artery bypass grafting / H.G. Pietersen, C.J. Langenberg, G. Geskes et al. // Clin. Nutr. - 1998. - Vol. 17, № 2. - P. 73-75.
246. Pisarenko, O.I. On the mechanism of enhanced ATP formation in hypoxic myocardium caused by glutamic acid / O.I. Pisarenko, E.S. Solomatina, V.E. Ivanov et al. // Basic Research in Cardiology. - 1985. - Vol. 80, № 2. - P. 126-134.
247. Plotnikoff, N.P., Faith R.E., Murgu A.G., Good R.A. Cytokines: Stress and Immunity. - Boca Raton: CRC Press, 2006. - 2nd Edition. - 405 p.
248. Poljsak, B. Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress / B. Poljsak, R.G. Dahmane, A. Godic // Acta Dermatovenereol. Alp. Pannonica Adriat. - 2012. - Vol. 21, № 2. - P. 33-36.
249. Prasad, I. Inhibition of p38 pathway leads to OA-like changes in a rat animal model / I. Prasad, X. Mao, Y. Wang et al. // Rheumatology. - 2012. - Vol. 51, № 5. - P. 813-823.
250. Rajendran, P. The vascular endothelium and human diseases / P. Rajendran, T. Rengarajan, J. Thangavel et al. // Int. J. Biol. Sci. - 2013. - Vol. 9, № 10. - P. 1057-1069.
251. Robles, T. Out of Balance: A New Look at Chronic Stress, Depression, and Immunity / T. Robles, R. Glaser, J. Kiecolt-Glaser // Current directions in Psychological Science. - 2005. - Vol. 14. - P. 111-115.
252. Ronald de Kloet, E. Hormones, brain and stress / E. Ronald de Kloet // Endocrine Regulations. - 2003. - Vol. 37. - P. 51-68.
253. Rosenkranz, S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodelling / S. Rosenkranz // Cardiovasc. Res. - 2004. - Vol. 63, № 3. - P. 423-432.
254. Sagi, Y. Nitric oxide regulates synaptic transmission between spiny projection neurons / Y. Sagi, M. Heiman, D. Jayms et al. // PNAS. - 2014. - Vol. 111, № 49. - P. 17636-17641.

255. Sawai, A. Influence of mental stress on cardiovascular function as evaluated by changes in energy expenditure / A. Sawai, K. Ohshige, K. Yamasue et al. // *Hypertens Res.* - 2007. - Vol. 30. - P. 1019-1027.
256. Schmidlin, O. Effects of physiological aging on cardiac electrophysiology in perfused Fischer 344 rat hearts / O. Schmidlin, S. Bharati, M. Lev et al. // *Am. J. Physiol.* - 1992. - Vol. 262, № 1. - P. H97-H105.
257. Schmidt, A. Exogenous nitric oxide regulates activity and synthesis of vascular endothelial nitric oxide synthase / A. Schmidt, S. Bilgasem, S. Lorkowski et al. // *Eur. J. Clin. Invest.* - 2008. - Vol. 38, № 7. - P. 476-485.
258. Schwartz, J.B. Dopaminergic responses in the Fischer 344 rat heart: preserved chronotropic and dromotropic responses with aging / J.B. Schwartz // *J. Gerontology.* - 1997. - 52, № 1. - P. M36-M43.
259. Shaw, P.X. Oxidative Stress and Aging Diseases / P.X. Shaw, G. Werstuck, Y. Chen // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* - 2014. - Vol. 2014. - 9 p.
260. Shigeri, Y. Molecular pharmacology of glutamate transporters, EAATs and VGLUTs / Y. Shigeri, R.P. Seal, K. Shimamoto // *Brain Research Reviews.* - 2004. - Vol. 45, № 3. - P. 250-265.
261. Siwik, D.A. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts / D.A. Siwik et al. // *Am. J. Physiol.* - 2001. - Vol. 280. - P. 53-60.
262. Smith, C. Illuminating the interrelated immune and endocrine adaptations after multiple exposures to short immobilization stress by in vivo blocking of IL-6 / C. Smith, N. Wilson, A. Louw et al. // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* - 2007. - Vol. 292. - P. 1439-1447.
263. Smith, S.K. Solubilization of human platelet α -adrenogetic receptors: evidence that agonist occupancy of the receptor stabilizes receptor-effector interactions / S.K. Smith, L.E. Limbird // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* - 1981. - Vol. 78, № 7. - P. 4026-4030.
264. Smith, W.S. Pathophysiology of Focal Cerebral Ischemia: a Therapeutic Perspective / W.S. Smith // *J. Vase. Interv. Radiol.* - 2004. - Vol. 15. - P. 3-12.

265. Snyder, S.H. Novel Neurotransmitters and Their Neuropsychiatric Relevance / S.H. Snyder, C.D. Ferris // *Am. J. Psychiatry*. - 2000. - Vol. 157. - P. 1738-1751.
266. Snyder-Mackler, N. Shared signatures of social stress and aging in peripheral blood mononuclear cell gene expression profiles / N. Snyder-Mackler, M. Somel, J. Tung // *Aging Cell*. - 2014. - Vol. 13, № 5. - P. 954-957.
267. Stein, M. Reduction of fibrosis-related arrhythmias by chronic renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors in an aged mouse model / M. Stein, M. Boulaksil, J.A. Jansen et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2010. - Vol. 299, № 2. - P. H310-H321.
268. Strait, J.B. Aging-associated cardiovascular changes and their relationship to heart failure / J.B. Strait, E.G. Lakatta // *Heart Failure Clin.* - 2012. - Vol. 8, № 1. - P. 143-164.
269. Stratton, J.R. Effects of aging on cardio-vascular responses to parasympathetic withdrawal / J.R. Stratton, W.C. Levy, J.H. Caldwell et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. - 2003. - Vol. 41, № 11. - P. 2077-2083.
270. Takeda, M. Constitutive nitric oxide synthase is associated with retinal vascular permeability in early diabetic rats / M. Takeda, F. Mori, A. Yoshida et al. // *Diabetologia*. - 2001. - Vol. 44, № 8. - P. 1043-1050.
271. Templin, C. Clinical Features and Outcomes of Takotsubo (Stress) Cardiomyopathy / C. Templin, J.R. Ghadri, J. Diekmann et al. // *N. Engl. J. Med.* - 2015. - Vol. 373, № 10. - P. 929-938.
272. Tominaga, R. Protective effects of glutamate and aspartate on the ischemic and reperfused myocardium of hearts from starved rats / R. Tominaga, M. Yoshitoshi, Y. Kawachi et al. // *Jpn. J. Surg.* - 1985. - Vol. 15, № 5. - P. 387-394.
273. Tousoulis, D. Conflicting effects of nitric oxide and oxidative stress in chronic heart failure: potential therapeutic strategies / D. Tousoulis, N. Papageorgiou, A. Briasoulis et al. // *Heart Fail. Rev.* - 2012. - Vol. 17, № 1. - P. 65-79.
274. Townsend, D. Age-dependent Dystrophin Loss and Genetic Reconstitution Establish a Molecular Link Between Dystrophin and Heart Performance During

- Aging / D. Townsend, M. Daly, J.S. Chamberlain et al. // *Molecular Therapy*. - 2011. - Vol. 19, № 10. - P. 1821-1825.
275. Turdi, S. AMP-activated protein kinase deficiency exacerbates aging-induced myocardial contractile dysfunction / S. Turdi, X. Fan, J. Li et al. // *Aging Cell*. - 2010. - Vol. 9, № 4. - P. 592-606.
 276. Tyurenkov, I.N. The antiamnesic properties of the glutamic acid and its new phenylic derivative / I.N. Tyurenkov, V.V. Bagmetova, Yu.V. Chernysheva // *Materials of the conference «Education and science without borders» / International Journal Of Applied And Fundamental Research*. - 2013. - № 2.
 277. Uchino, B.N. Aging and cardio-vascular reactivity to stress: longitudinal evidence for changes in stress reactivity / B.N. Uchino, J. Holt-Lunstad, L.E. Bloor et al. // *Psychology and aging*. - 2005. - Vol. 20, № 1. - P. 134-143.
 278. Vaiva, G. Low posttrauma GABA plasma levels as a predictive factor in the development of acute posttraumatic stress disorder / G. Vaiva, P. Thomas, F.Ducrocq // *Biol.Psychiatry*. - 2004. - Vol. 55, №3. - P. 250-254.
 279. Venturini, A. The importance of myocardial amino acids during ischemia and reperfusion in dilated left ventricle of patients with degenerative mitral valve disease / A. Venturini, R. Ascione, H. Lin // *The Mol. Cell. Biochem*. - 2009. - Vol. 330, № 1-2. - P. 63-70.
 280. Verhamme, P. The pivotal role of the endothelium in haemostasis and thrombosis / P. Verhamme, M.F. Hoylaerts // *Acta Clin. Belg*. - 2006. - Vol. 61, № 5. - P. 213-219.
 281. Verkuyl, J. GABAergic transmission in the rat paraventricular nucleus of the hypothalamus is suppressed by corticosterone and stress / J. Verkuyl, H. Karst // *Eur. J. Neurosci*. - 2005. - Vol. 21. - P. 113-121.
 282. Villanueva, C. Subcellular and cellular locations of nitric-oxide synthase isoforms as determinants of health and disease / C. Villanueva, C. Giulivi // *Free Radic. Biol. Med*. - 2010. - Vol. 49, № 3. - P. 307-316.
 283. Viskin, S. Ideopathic ventricular fibrillation / S. Viskin, B. Belhassen // *Amer. Heart J*. - 1990. - Vol. 120, № 3. - P. 661-671.

284. Wang, C.H. Oxidative stress response elicited by mitochondrial dysfunction: implication in the pathophysiology of aging / C.H. Wang, S.B. Wu, Y.T. Wu et al. // *Exp. Biol. Med.* - 2013. - Vol. 238, № 5. - P. 450-460.
285. Wang, C.H. Oxidative stress response elicited by mitochondrial dysfunction: implication in the pathophysiology of aging / C.H. Wang, S.B. Wu, Y.T. Wu et al. // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. - 2013. - Vol. 238, № 5. - P. 450-460.
286. Wang, L. Oxidative stress and substance P mediate psychological stress-induced autophagy and delay of hair growth in mice / C.H. Wang, S.B. Wu, Y.T. Wu et al. // *Arch. Dermatol. Res.* - 2015. - Vol. 307, № 2. - P. 171-181.
287. Wise, S. Beneficial impact of specific substances on cardiac: reperfusion injury in vitro / S. Wise, B.T. Mawner et al. // *Clin. Nut.* - 1992. - Vol. 11. - P. 71.
288. Woodman, O.L. Contribution of nitric oxide, cyclic GMP and K⁺ channels to acetylcholine-induced dilatation of rat conduit and resistance arteries / O.L. Woodman, O. Wongsawatkul, C.G. Sobey // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* - 2000. - Vol. 27, № 1. - P. 34-40.
289. Wu, J.J. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress mediate the physiological impairment induced by the disruption of autophagy / J.J. Wu et al. // *Aging.* - 2009. - Vol. 1, № 4. - P. 425-437.
290. Yan, L.J. Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance / L.J. Yan // *Redox Biol.* - 2014. - Vol. 2. - P. 165-169.
291. Yano, Y. Blood Pressure Reactivity to Psychological Stress in Young Adults and Cognition in Midlife: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study / Y. Yano, H. Ning, J.P. Reis et al. // *J. Am. Heart Assoc.* - 2016. - Vol. 5, № 1.
292. Yee, A. Anhedonia in depressed patients on treatment with selective serotonin reuptake inhibitor anti-depressant-A two-centered study in Malaysia / A. Yee, S.C. Chin, A.H. Hashim et al. // *Int. J. Psychiatry Clin. Pract.* - 2015. - Vol. 15. - P. 1-6.
293. Yusuf, S. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11 119 cases and 13 648 controls from 52 countries (the

- INTERHEART study): case-control study / S. Yusuf, S. Hawken, S. Ounpuu et al. // *Lancet*. - 2004. - Vol. 364. - P. 937-962.
294. Zelena, D. The janus face of stress on reproduction: from health to disease / D. Zelena // *Int. J. Endocrinol.* - 2015. - Vol. 2015.
295. Zhang, Y. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 accentuates aging-induced cardiac remodeling and contractile dysfunction: role of AMPK, Sirt1, and mitochondrial function / Y. Zhang, S.L. Mi, N. Hu et al. // *Free Radic. Biol. Med.* - 2014. - Vol. 71. - P. 208-220.
296. Zile, M. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function / M. Zile, D. Brutsaert // *Circulation*. - 2002. - Vol. 105. - P. 1387-1389.
297. Zutphen, L.F. Principles of laboratory animal science / L.F. Zutphen, V. Baumans, A.C.Beynen // Amsterdam: Elsevier, 1993. - 389 p.