

©Коллектив авторов

ВОЗДЕЙСТВИЕ БИГУАНИДИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА РАЗВИТИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ У КРЫС

Е.И. Горина^{1}, Т.Н. Попова¹, К.К. Шульгин¹, С.С. Попов², Л.Ф. Панченко³, О.А. Сафонова¹*

¹Воронежский государственный университет,

394018, Воронеж, Университетская пл., 1; эл. почта: kattilda@mail.ru

²Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж

³Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва

Проведено исследование воздействия синтетических производных бигуанида N-[имино(1-пиперидинил)метил]гуанидина (НИПМГ) и 1,3-диметил-5-[(карбамимидамидометанимидоил)амино]бензол-1,3-дикарбоксилата (ДКБ) на степень окислительной модификации белков (ОМБ) и фрагментации ДНК, содержание первичных продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК), а также активность глутатионовой антиоксидантной системы в печени и сердце крыс при экспериментальной гипергликемии. В результате оценки содержания ДК и карбонильных соединений установлено, что введение бигуанидов (15,0 мг/кг) крысам при гипергликемии способствовало снижению интенсивности свободнорадикальных процессов в исследуемых тканях по сравнению с возросшими показателями при гипергликемии. Данные об изменениях уровня ДК и ОМБ у крыс с гипергликемией, которым вводили НИПМГ и ДКБ, согласуются с результатами оценки степени фрагментации ДНК. При этом активность антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы), а также содержание восстановленного глутатиона в печени и сердце крыс изменялись в сторону контрольных значений. Для метформина, который использовали в качестве препарата сравнения, были отмечены сходные изменения исследуемых параметров. Полученные результаты указывают на способность исследуемых бигуанидиновых производных оказывать позитивное регулирующее воздействие на свободнорадикальный гомеостаз, снижая степень окислительного стресса при данной патологии, что способствует пониманию механизма действия бигуанидиновых производных и совершенствованию методов терапии сахарного диабета 2 типа.

Ключевые слова: гипергликемия, свободнорадикальное окисление, окислительная модификация белков, фрагментация ДНК, глутатионовая антиоксидантная система, бигуанидиновые производные

DOI: 10.18097/PBMC20186403261

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время сахарный диабет по распространённости занимает третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний и часто сопровождается тяжёлыми осложнениями, включающими ишемическую болезнь сердца, нефропатию, гипертонию и другие. В связи с этим, актуальны клинические и экспериментальные исследования, направленные на изучение механизмов коррекции данного патологического состояния.

В основе развития и прогрессирования многих осложнений сахарного диабета 2 типа (СД2) лежит избыточное гликирование и активация свободнорадикального окисления (СО) биомолекул в условиях хронической гипергликемии [1]. Известно, что активные формы кислорода (АФК) не только обладают прямым повреждающим действием на молекулярные и клеточные структуры, ткани и органы, но и, активируя транскрипционный фактор NF-κB, вызывают тромбогенную трансформацию сосудистой стенки, нарушение секреции инсулина, а также появление генетических мутаций и ускорение апоптоза [2]. Субстратами СО могут выступать липиды, белки, нуклеиновые кислоты и другие биомолекулы.

Рядом авторов было показано, что в состоянии окислительного стресса (ОС) атаке АФК подвергаются

в первую очередь белки плазматических мембран [3, 4]. Свободнорадикальной модификации подвергается как полипептидная цепь, так и боковые группы аминокислотных остатков, что может приводить к разрывам пептидной цепи и образованию различных стабильных метаболитов аминокислот. Внутриклеточный уровень окисленных белков определяется балансом между скоростью окисления белков с одной стороны и скоростью деградации окисленных белков с другой, что в значительной степени взаимосвязано с уровнем генерации АФК, содержанием и активностью ферментативных и неферментативных антиоксидантов.

Модификации молекул ДНК в условиях интенсификации СО сопряжены с нарушениями структуры азотистых оснований, дезоксирибозного кольца, а также расщеплением сахарофосфатного остова, что, в конце концов, приводит к фрагментации этого полимера [5].

Повреждающему эффекту АФК противостоит антиоксидантная система (АОС) организма, важнейшим звеном которой выступает глутатионовая система, к которой относятся такие ферменты как глутатионпероксидаза (ГП) и глутатионредуктаза (ГР). ГП (КФ 1.11.1.9) обладает широкой субстратной специфичностью по отношению к гидропероксидам, но абсолютно специфична к восстановленному глутатиону (GSH), который в ходе реакции переходит

* - адресат для переписки

в окисленную форму. Функционирование ГП тесно сопряжено с работой ГР (КФ 1.8.1.7), регенерирующей GSH из окисленной формы. GSH является акцептором свободных радикалов (СР), в частности, наиболее агрессивного OH^{\bullet} радикала. Обеспечивая обезвреживание пероксидов за счёт выполнения функции косубстрата ГП, а также детоксикации гидроксильных радикалов, GSH является одним из важнейших компонентов системы антиоксидантной защиты клетки [6].

Следует отметить, что литературные данные, касающиеся активности АОС и выраженности ОС у больных СД2 весьма противоречивы. В ряде работ отмечаются разнонаправленные изменения активности компонентов антиоксидантной защиты, ведущие к возникновению дисбаланса АОС [7, 8]. Вместе с тем, уделяется большое внимание применению веществ, обладающими антиоксидантными свойствами, в терапии СД2 с целью коррекции нарушений при данной патологии.

В этом плане представляют интерес бигуанидиновые производные, обладающие широким спектром биологической активности. Существуют сведения о проявлении ими антиоксидантных, гипогликемических, антисептических, кардиопротекторных и других свойств [9, 10]. Так, бигуанидиновое производное – метформин, наряду с выраженным антигипергликемическим влиянием, может оказывать кардиопротекторное действие, а также усиливать микроциркуляцию в различных органах и тканях [11]. Есть данные о способности данных соединений ингибировать образование $\text{O}_2^{\bullet-}$ и NO^{\bullet} , подавлять ПОЛ (алифатические, бензопирановые и гетеробигуанидинные производные гуанидина) [12-14].

В этой связи, актуальным является исследование воздействия синтетических производных бигуанида – НИПМГ и ДКБ, на свободнорадикальный гомеостаз в условиях гипергликемии. Эти вещества были отобраны нами с помощью программы прогноза “структура-свойство” PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) на основании анализа вероятной антиоксидантной, антидиабетической и кардиопротекторной активности.

Целью данной работы явилось исследование влияния НИПМГ и ДКБ на степень ОМБ и фрагментации ДНК, содержание первичных продуктов ПОЛ – ДК, а также активность глутатионовой АОС в печени и сердце крыс при экспериментальной гипергликемии.

МЕТОДИКА

В работе использовали NADPH, ЭДТА, 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойную) кислоту (ДТНБ), GSH, GSSG, коммерческий препарат ГР, 1 ед/мл (все “Sigma”, США), трис (“Panreac”, Испания), набор “MassRuler” – маркеры молекулярной массы (“Fermentas”, США), остальные реактивы отечественного производства марки “х.ч” или “ч.д.а”.

В качестве объекта исследования использовали белых лабораторных крыс-самцов массой 150-200 г, которых содержали в специально оборудованном

виварии в соответствии с правилами гуманного обращения с животными.

Для индукции гипергликемии использовали протамина-сульфатную модель, в основе которой лежит возможность связывания протамина-сульфатом эндогенного гепарина у крыс, что ведет к развитию резистентности по отношению к гипогликемическому действию как эндогенного, так и экзогенного инсулина [15]. Протамин-сульфат вводили крысам внутримышечно в течение 3-х недель в дозе 10,0 мг/кг массы тела животного в объёме 0,5 мл 0,9%-ного NaCl, 3 раза в сутки. Исследуемые бигуаниды были синтезированы на кафедре органической химии Воронежского государственного университета.

В ходе эксперимента животные были разделены на пять групп: в 1-й группе (n=15) животных содержали на стандартном режиме вивария; 2-ю группу (n=15) составляли животные с гипергликемией; в 3-й группе (n=15) животным с гипергликемией внутрибрюшинно вводили препарат сравнения – метформин в виде раствора в 0,5 мл 0,9% раствора NaCl в дозе 15,0 мг/кг утром ежедневно на последней неделе эксперимента, 1 раз в сутки; животным 4-й и 5-й групп (n=15) по вышеописанной схеме вводили НИПМГ и ДКБ в той же дозе. Через три недели после начала индуцирования гипергликемии наркотизированных животных всех экспериментальных групп умерщвляли и использовали для дальнейших исследований.

Для получения гомогената навеску печени и сердца крыс гомогенизировали с охлажденной средой выделения (50 мМ трис-HCl буфер, pH 7,5, содержащий 1 мМ ЭДТА, 1% β-меркаптоэтанол) в соотношении 1:4 (для печени) и 1:3 (для сердца), затем центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин [16]. Выбор исследуемых тканей связан с их физиолого-биохимическими особенностями, а также с высокой подверженностью повреждениям в патогенезе СД2 [2].

Уровень гликемии в сыворотке крови крыс определяли на 15, 17 и 19-е сутки с начала введения протамина-сульфата глюкозооксидазным методом с помощью набора реактивов “ГЛЮКОЗА-12-ВИТАЛ” (ООО “Витал-Диагностикс”, СПб, Россия).

Содержание ДК определяли спектрофотометрически при длине волны 233 нм [16].

Для оценки ОМБ использовали метод, основанный на взаимодействии окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенил-гидразонов [17]. Оптическую плотность опытной пробы измеряли при 370 нм относительно контрольной пробы. Содержание карбонильных групп (нМ) рассчитывали с использованием коэффициента молярной экстинкции $\epsilon=22000 \text{ см}^{-1} \times \text{М}^{-1}$.

Геномную ДНК из биологического материала выделяли на колонках “К-СОРБ-100” с помощью набора реактивов “СИНТОЛ” (Россия). Фрагментацию ДНК выявляли путём проведения электрофореза образца ДНК в агарозном геле с использованием буфера трис-ацетат-ЭДТА (ТАЕ).

Активность ферментов определяли спектрофотометрически при длине волны 340 нм, используя спектрофотометр Hitachi U1900 (Япония) с программным обеспечением. О скорости ГП-реакции судили по уменьшению оптической плотности в результате окисления NADPH, протекающего за счёт осуществления сопряженных ферментативных реакций: образования окисленного глутатиона (GSSG) под действием ГП и его последующего восстановления, взаимосвязанного с окислением NADPH, под действием ГР [16]. Измерение активности ГП проводили в 0,05 М калий-фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,12 мМ NADPH, 0,85 мМ GSH, 0,37 мМ H₂O₂, 1 ед/мл ГР. Активность ГР оценивали по уменьшению оптической плотности в результате окисления NADPH, протекающего за счёт реакции восстановления глутатиона [16]. Измерение активности фермента проводили в 0,05 М калий-фосфатном-буфере (рН 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,16 мМ NADPH, 0,8 мМ GSSG. За единицу ферментативной активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее образование 1 микромоля продукта реакции за 1 мин при 25°C. Активность ферментов выражали в виде удельной активности и в Е на грамм сырой массы печени и сердца.

Концентрацию восстановленного глутатиона определяли спектрофотометрически при длине волны 412 нм по реакции с реактивом Элмана [16].

Общий белок определяли унифицированным биуретовым методом с использованием раствора бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта.

В таблице и на рисунках представлены данные как среднее значение ± стандартная ошибка среднего. Данные обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение протамина-сульфата сопровождалось прогрессирующим увеличением содержания глюкозы в сыворотке крови животных,

что соответствовало имеющимся литературным данным и свидетельствовало о развитии экспериментальной гипергликемии [7, 8, 18, 19]. При введении препарата сравнения концентрация глюкозы в крови крыс с гипергликемией снижалась на 19-е сутки эксперимента в 2,6 раза, а при введении исследуемых бигуанидиновых производных – в 2,3 раза (рис. 1). Снижение уровня гликемии в сторону нормы у исследованных животных свидетельствует о гипогликемическом эффекте НИПМГ и ДКБ в условиях экспериментального моделирования патологии, который, вероятно, может быть достигнут в полной мере при более длительном их введении. Подтверждением этому могут служить данные, полученные при введении животным с патологией метформина: этот используемый в терапии СД2 препарат также не вызывал в данных условиях эксперимента нормализацию уровня глюкозы.

О степени развития ПОЛ у крыс с гипергликемией судили по накоплению ДК. При гипергликемии у крыс в ткани печени и сердца существенно увеличивалось содержание ДК, что согласуется с литературными данными [19]. При введении препарата сравнения данный показатель изменялся в направлении нормы: в печени крыс снижался в 2,9 раза, в сердце – в 1,8 раза. При действии НИПМГ и ДКБ в печени крыс содержание ДК уменьшалось в 3,0 и 3,4 раза, в сердце – в 2,3 и 2,1 раза соответственно (рис. 2).

Как известно, одним из наиболее ранних и надёжных индикаторов поражений тканей при интенсификации СО является уровень ОМБ [20]. Окислительное повреждение белков представляет собой цепной процесс, в ходе которого гидроксипроизводное белка, образовавшееся при взаимодействии АФК с аминокислотами, распадается на карбонильные фрагменты, которые рассматриваются как маркеры ОМБ. В ходе исследований установлено, что при гипергликемии содержание карбонильных соединений в печени крыс увеличивается в 4,6 раза по сравнению

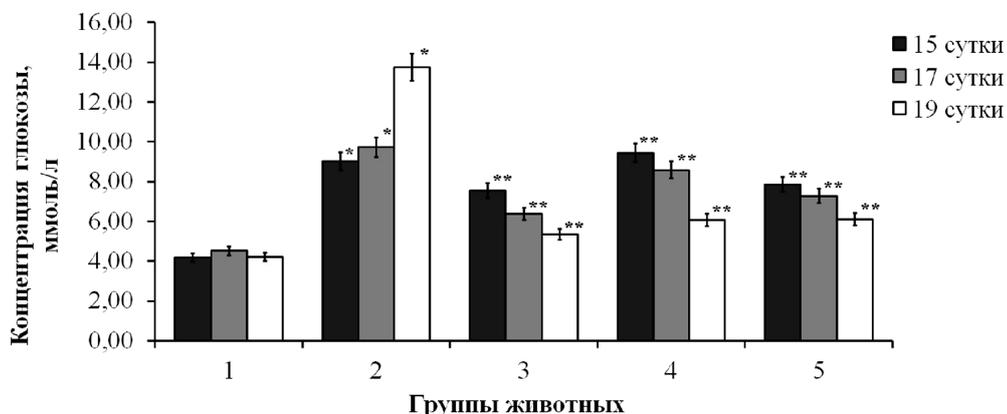


Рисунок 1. Концентрация глюкозы в сыворотке крови крыс. Здесь и на рисунках 2, 3, 5: 1 - контрольная группа, 2 - группа с гипергликемией, 3 - группа, которой вводили на фоне развития патологии препарат сравнения, 4 - группа, которой вводили на фоне развития патологии N-[имино(1-пиперидинил)метил]гуанидин, 5 - группа, которой вводили на фоне развития патологии 1,3-диметил-5-[(карбамимидамидометанимидоил)амино]бензол-1,3-дикарбоксилат на 15-е, 17-е и 19-е сутки после начала эксперимента. Различия достоверны при $p \leq 0,05$: * - по сравнению с контрольной группой, ** - по сравнению с группой с гипергликемией.

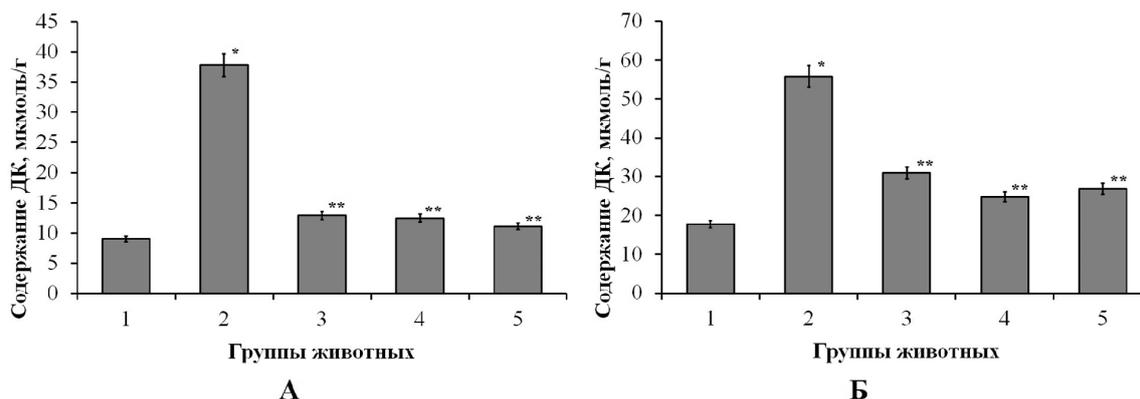


Рисунок 2. Содержание диеновых конъюгатов в печени (А) и сердце (Б) крыс.

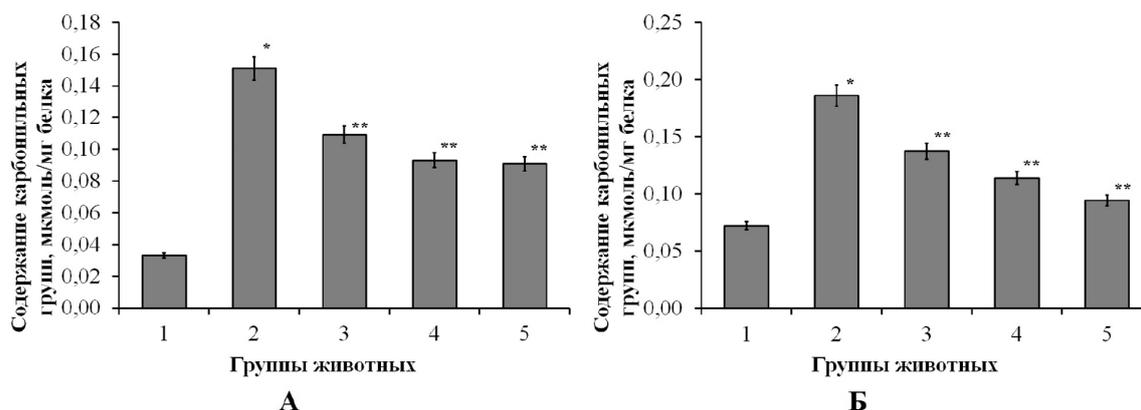


Рисунок 3. Содержание продуктов окислительной модификации белков в печени (А) и сердце (Б) крыс.

с контрольной группой. Возрастание степени ОМБ было выявлено также и в сердце экспериментальных животных – в 2,6 раза. Полученные результаты согласуются с литературными данными, указывающими, что основными индукторами ОМБ выступает увеличение уровня АФК, продуктов ПОЛ. При действии АФК происходит нарушение нативной конформации белков с образованием крупных белковых агрегатов или фрагментация белковой молекулы. $OH\cdot$ чаще всего вызывает агрегацию белков, но совместно с $O_2^{\cdot-}$ приводит к фрагментации с образованием низкомолекулярных фрагментов [21, 22]. При действии СР происходит нарушение нативной конформации ряда доменов белков. В результате увеличивается число гидрофобных остатков на поверхности глобул, что и обуславливает формирование крупных белковых конгломератов [3, 4] (рис. 3).

При введении экспериментальным животным препарата сравнения содержание карбонильных групп уменьшалось в печени и в сердце в 1,4 раза относительно данных при патологии. При воздействии НИПМГ и ДКБ значения также изменялись в направлении контроля: в печени данный показатель уменьшался в 1,6 и 1,7 раза и в сердце крыс – в 1,6 и 2,0 раза.

Данные об изменениях уровня ДК и ОМБ у крыс с гипергликемией, которым вводили НИПМГ и ДКБ, согласуются с результатами оценки степени фрагментации ДНК. ДНК, полученная из ткани

печени и сердца животных, составивших контрольную группу, была представлена одним фрагментом в начале трека. Выявлено, что при развитии гипергликемии наблюдалась фрагментация ДНК печени и сердца крыс (рис. 4). Причём полученные фрагменты ДНК образовывали характерную “апоптотическую лестницу”.

В ходе анализа электрофореграммы образцов ДНК из печеночной и сердечной ткани крыс установлено, что введение как препарата сравнения, так и исследуемых бигуанидов крысам с экспериментальной гипергликемией способствует значительному снижению степени фрагментации ДНК. Так, в образцах ДНК животных, которым вводили протекторы, не было выявлено совокупности полос, соответствующей низкомолекулярной ДНК, что указывает на способность исследуемых бигуанидиновых производных оказывать антиапоптотический эффект.

В условиях ОС при гипергликемии наблюдается мобилизация ГП-ГР-системы [18]. Имеются литературные данные, что изменения активности ГР и ГП при ОС обусловлены изменением экспрессии кодирующих их генов. Ген ГП, как и гены других антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, имеют в области промотора сайт связывания для редокс-чувствительного транскрипционного ядерного фактора NF-κB [23], который контролирует экспрессию ряда генов, играющих важную роль в ответе на стресс. Имеются

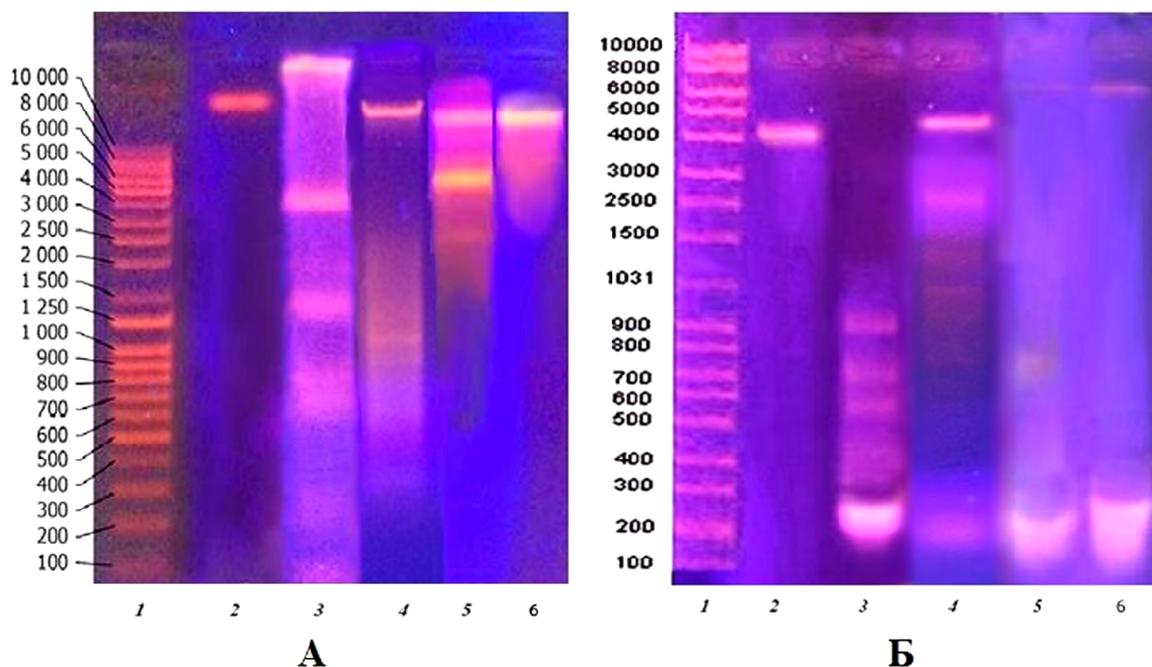


Рисунок 4. Электрофореграмма препаратов ДНК из печени (А) и сердца (Б) крыс экспериментальных групп. 1 - маркеры молекулярной массы, 2 - контроль, 3 - экспериментальная гипергликемия, 4 - введение на фоне развития патологии препарата сравнения, 5 - введение на фоне развития патологии N-[имино(1-пиперидинил)метил]гуанидина, 6 - введение на фоне развития патологии 1,3-диметил-5-[(карбамимидамидометанимидоил)амино]бензол-1,3-дикарбоксилата

также данные, что транскрипция гена ГР находится в зависимости от степени восстановленности транскрипционного фактора ОхуR [24]. Активация данного белка под действием H_2O_2 стимулирует синтез порядка 30 ферментов, в том числе и ГР.

При введении исследуемых протекторных веществ крысам на фоне развития патологии было выявлено изменение удельной активности ГП и ГР. Так, при действии НИПМГ удельная активность ГП снижалась в печени в 2,1 раза и в сердце – в 1,2 раза, изменяясь в направлении нормы. Удельная активность ГР при этом снижалась в печени крыс в 1,7 раза и в сердце – в 1,4 раза. При введении ДКБ удельная активность ГП уменьшалась в печени крыс в 1,4 раза и в сердце – в 1,2 раза относительно значений при патологии. Удельная активность ГР при этом изменялась сходным образом, снижаясь в печени и сердце крыс в 1,2 раза (таблица). Изменения активности ферментов, выраженной в Е/г сырой массы, имели сходную тенденцию. Очевидно, что введение как метформина, так и исследуемых бигуанидиновых производных, сопровождалось торможением скорости свободнорадикальных процессов в организме животных и соответствующим снижением степени мобилизации данных ферментов антиоксидантной защиты.

Отмечено, что в условиях развития гипергликемии концентрация глутатиона уменьшалась во всех исследуемых тканях крыс [7, 18]. Вероятно, восстановленная форма данного антиоксиданта расходовалась на обезвреживание свободнорадикальных соединений и на поддержание окислительно-восстановительного гомеостаза клетки, нарушенного

при патологии. Кроме того, причиной снижения концентрации глутатиона может быть снижение интенсивности функционирования пентозофосфатного пути при гипергликемии, вследствие чего уменьшается доступность NADPH, необходимого для регенерации GSH. Снижение концентрации глутатиона, согласно литературным данным, также было выявлено в плазме и эритроцитах больных диабетом 1 типа и длительно протекающим СД2 [25].

Согласно полученным результатам, при введении препарата сравнения, НИПМГ и ДКБ на фоне развития гипергликемии в тканях животных отмечается увеличение содержания GSH по сравнению с данными при патологии (рис. 5). Так, было показано, что при введении метформина данный показатель возрастал относительно контроля в печени крыс в 1,2 раза, в сердце – в 1,3 раза. Воздействие НИПМГ и ДКБ приводило к возрастанию содержания GSH: в 1,3 и 1,2 раза в печени; в 1,4 и 1,2 раза в сердце крыс, соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Таким образом, в ходе выполнения данной работы была подтверждена возможность проявления НИПМГ и ДКБ антидиабетической и антиоксидантной активности, которая была предсказана с помощью программы PASS. Степень окислительной модификации белков, выраженности фрагментации ДНК и развития ПОЛ, значительно возрастающие при гипергликемии, индуцированной у крыс введением протамина-сульфата, существенно снижались под воздействием данных соединений.

БИГУАНИДЫ И ГИПЕРГЛИКЕМИЯ

Таблица. Активность глутатионовой АОС у крыс различных экспериментальных групп

Показатель	ГР, Е/мг белка		ГР, Е/г сырой массы		ГП, Е/мг белка		ГП, Е/г сырой массы	
	печень	сердце	печень	сердце	печень	сердце	печень	сердце
контроль	0,06823 ± 0,00341	0,00701 ± 0,00035	0,78500 ± 0,03925	0,10601 ± 0,00530	0,01180 ± 0,00059	0,05895 ± 0,00295	0,13655 ± 0,00683	0,34945 ± 0,01747
СД2	0,15010* ± 0,00751	0,01120* ± 0,00056	1,33449* ± 0,06672	0,15700* ± 0,00785	0,02940* ± 0,00147	0,07530* ± 0,00377	0,31406* ± 0,01570	0,43140* ± 0,02157
метформин	0,09019** ± 0,00451	0,00825** ± 0,00041	0,83762** ± 0,04188	0,12473** ± 0,00624	0,01445** ± 0,00072	0,06543** ± 0,00327	0,14177** ± 0,00709	0,35870** ± 0,01794
НИПМГ	0,08967** ± 0,00448	0,00808** ± 0,00040	0,81562** ± 0,04078	0,12439** ± 0,00622	0,01371** ± 0,00069	0,06113** ± 0,00306	0,13771** ± 0,00689	0,35611** ± 0,01781
ДКБ	0,12044** ± 0,00602	0,00911** ± 0,00046	0,96535** ± 0,04827	0,12561** ± 0,00628	0,02152** ± 0,00108	0,06392** ± 0,00320	0,14670** ± 0,00734	0,36262** ± 0,01813

Примечание. Различия достоверны при $p \leq 0,05$: * - по сравнению с контрольной группой, ** - по сравнению с группой с гипергликемией.

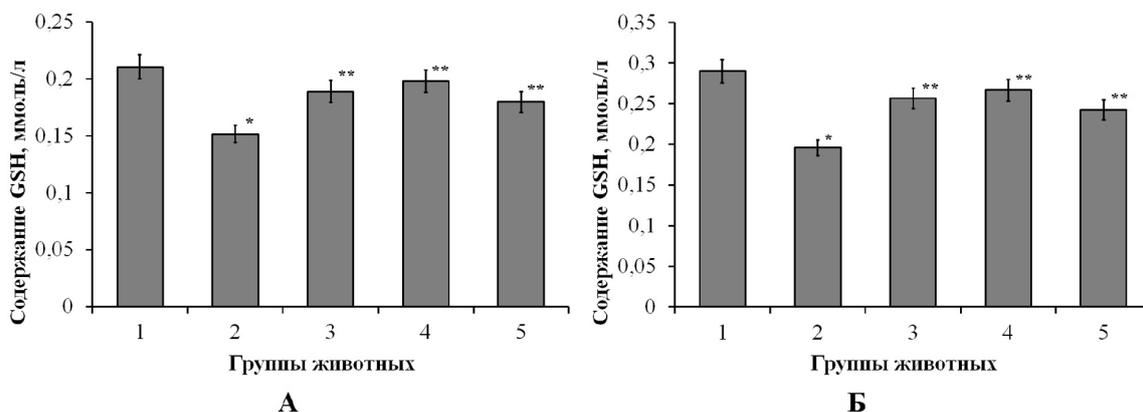


Рисунок 5. Содержание восстановленного глутатиона в печени (А) и сердце (Б) крыс.

Это сопровождалось изменением показателей функционального состояния глутатионовой АОС – содержания GSH, активностей ГП и ГР, в направлении контрольных значений. В связи с этим следует отметить, что при сравнительном анализе действия тестируемых синтетических бигуанидиновых производных в печени и сердце были получены различные данные. Так, например, при анализе активности ГП и ГР в печени экспериментальных животных для НИПМГ были отмечены более выраженные изменения исследуемого параметра, чем для ДКБ. Однако на содержание продуктов ОМБ в сердце животных более выраженное воздействие оказывал ДКБ. По-видимому, это может быть связано с особенностями метаболизма данных тканей в условиях развития оксидативного стресса на фоне гипергликемии. Вместе с тем, полученные данные свидетельствуют о более выраженном антиоксидантном действии НИПМГ и ДКБ по сравнению с препаратом сравнения метформином, что может быть использовано в дальнейшем для доклинических и клинических исследований с целью расширения спектра препаратов, применяемых для лечения СД2.

ЛИТЕРАТУРА

- Zaccardi F, Pitocco D, Ghirlanda G. (2009) *Diabetes Metab. Res. Rev.*, **25**(3), 199-207.
- Haidara M.A., Yassin H.Z., Ammar H., Rateb M.A., Zorkani M.A. (2006) *Curr. Vasc. Pharmacol.*, **4**(3), 215-227.
- Davies K.J., Delsignore M.E. (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**(20), 9908-9913.
- Dean R.T., Hunt J.V., Grant A.J. (1991) *Free Rad. Biol. Med.*, **11**(12), 161-165.
- Cadet J., Davies K.J. (2017) *Free Radic. Biol. Med.*, Feb 8. pii: S0891-5849(17)30077-1. DOI: 10.1016
- Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. (2009) *Биомед. химия*, **55**(3), 255-277.
- Агарков А.А., Попова Т.Н., Веревкин А.Н., Матасова Л.В. (2016) *Бюлл. exper. биол. мед.*, **187**(2), 158-162.
- Склярова Е.И., Попова Т.Н., Шульгин К.К. (2016) *Бюлл. exper. биол. мед.*, **161**(2), 222-226.
- Dardonville C., Goya P., Rozas I. (2000) *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 1567-1577.
- Sun Kyung L., Kyu Y.Y., Sun K.H. (2005) *J. Med. Chem.*, **48**(8), 2882-2891.
- Смирнова О.М. (2010) *Сахарный диабет*, **3**, 83-90.
- Кондратьева Л.В. (2005) *Эндокринология*, **13**(6), 305.

13. Ouslimani N., Peynet J., Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Legrand A., Beaudoux J.L. (2005) *Metabolism*, **54**(6), 829-834.
14. Owen M.R., Doran E., Halestrap A.P. (2000) *Biochem J.*, **348**(3), 607-614.
15. Ульянов А.М., Тарасов Ю.А. (2000) *Вопр. мед. химии*, **46**(2), 149-154.
16. Popov S.S., Shulgin K.K., Popova T.N., Pashkov A.N., Agarkov A.A., Pinheiro de Carvalho M.A.A. (2015) *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **29**(10), 449-457.
17. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. (1995) *Вопр. мед. химии*, **41**(1), 24-26.
18. Агарков А.А., Попова Т.Н., Матасова Л.В. (2011) *Хим.-фарм. журнал*, **45**(7), 7-10.
19. Воронкова Я.Г., Попова Т.Н., Агарков А.А., Скулачев М.В. (2015) *Биохимия*, **80**(12), 1871-1879.
20. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Павлов С.В. (2005) *Совр. проблемы токсикол.*, **3**, 20-26.
21. Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Ключев Д.А., Бакенова Р.А., Култанов Б.Ж., Танкибаева Н.А., Койков В.В., Омарова Г.А. (2010) *Фундаментальные исследования*, **1**, 74-78.
22. Levine R.L. (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **32**(9), 790-796.
23. Sharma S., Dewald O., Adroque J., Salazar R.L., Razeghi P., Crapo J.D., Bowler R.P., Entman M.L., Taegtmeyer H. (2006) *Free Radic. Biol. Med.*, **40**(12), 2223-2231.
24. Николайчик Е.А. (2007) *Регуляция метаболизма клетки*, БГУ, Минск.
25. Бардымова Т.П., Колесниченко Л.С., Сергеева Е.С., Тарабан Н.В., Михалевич И.М., Сергеева М.П. (2009) *Сибирский медицинский журнал*, **7**, 81-82.

Поступила: 04. 03. 2018.
Принята к печати: 18. 05. 2018.

THE EFFECT OF BIGUANIDE DERIVATIVES ON OXIDATIVE STRESS IN RATS WITH HYPERGLYCEMIA

E.I. Gorina¹, T.N. Popova¹, K.K. Shulgin¹, S.S. Popov², L.F. Panchenko³, O.A. Safonova¹

¹Voronezh State University,

1 Universitetskaya sq., 1, Voronezh, 394018 Russia; e-mail: kattilda@mail.ru

²Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

³Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

The effect of the synthetic biguanide derivatives N-[imino(1-piperidinyl)methyl]guanidine (NIPMG) and 1,3-dimethyl-5-[(carbamimidamidomethanimidoil) amino]benzoyl-1,3dicarboxylate (DCB) on the degree of proteins oxidative modification (POM) and the DNA fragmentation, the content of the lipid peroxidation primary products – conjugated dienes (CD), and the activity of glutathione antioxidant system in the liver and heart of rats with experimental hyperglycemia was investigated. Administration of the biguanides (15.0 mg/kg) to hypoglycemic rats promoted reduction of the free radical processes intensity in the studied tissues. Data about CD and POM level changes in hyperglycemic rats treated by NIPMG and DKB correlate with the results of DNA fragmentation degree evaluation. At the same time, the activity of antioxidant enzymes (glutathione peroxidase and glutathione reductase), and the reduced glutathione content in the liver and heart of rats changed toward control values. For metformin, which was used as a comparison drug, changes in the studied parameters in the same direction were also found. These results indicate the ability of the tested biguanide derivatives to exhibit a positive regulatory effect on free radical homeostasis, reducing the degree of oxidative stress at this pathology.

Key words: hyperglycemia; free radical oxidation; proteins oxidative modification; DNA fragmentation; glutathione antioxidant system; biguanides