

МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ АФОБАЗОЛА НА NO-ПРОДУЦИРУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

С. Г. Дзугкоев, Ф. С. Дзугкоева, И. В. Можаяева, О. И. Маргиева, Н. М. Карчаидзе¹

Представлены данные о механизмах влияния афобазола на NO-продуцирующую функцию эндотелия в условиях окислительного стресса при экспериментальном сахарном диабете (СД). Впервые установлено, что данный препарат при СД *in vivo* угнетает интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижает концентрацию малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах на 16,07 % ($p = 0,05$), повышает активность СОД на 13,6 % ($p = 0,05$) и концентрацию суммарных метаболитов оксида азота в сыворотке крови на 33,3 % ($p = 0,001$). Действие на нитрооксидпродуцирующую функцию эндотелия обусловлено повышением доступности *L*-аргинина для NOS-3, снижением уровня фактора риска атерогенеза — ХС ЛНП в сыворотке крови и повышением уровня экспрессии NO-синтазы (NOS-3) в эндотелии сосудов в среднем на 30,5 % ($p = 0,001$).

Ключевые слова: перекисное окисление липидов (ПОЛ); антиокислительная система (АОС); афобазол; сахарный диабет; NO; дисфункция эндотелия; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Депрессивные расстройства у больных сахарным диабетом (СД) в значительной степени обусловлены формированием нейропатических осложнений, в частности, диабетической энцефалопатии [4], носящей симптоматический характер. Сопутствующая депрессия затрудняет компенсацию метаболических расстройств и способствует развитию сосудистых осложнений [11]. Особого внимания заслуживает проблема СД-коморбидных депрессий, которые считаются важным фактором метаболической декомпенсации СД и эскалации его поздних осложнений [20]. Данные литературы свидетельствуют о том, что при экспериментальном аллоксановом диабете выявляется увеличение длительности “поведения отчаяния”, гомологичного депрессии у человека, и сопутствующее снижение активности животных в тесте “открытое поле”. Причем эти нарушения со стороны центральной нервной системы происходят в условиях окислительного стресса (ОС), т.е. диабетическая нейропатия (ДН) развивается по ОС-зависимому механизму при вполне удовлетворительной компенсации СД [5]. Достижение устойчивой компенсации углеводного обмена является необходимым, но недостаточным условием эффективной профилактики и терапии нейропатических осложнений СД [1]. Используемые препараты для целенаправленной коррекции депрессивных расстройств при СД могут способствовать развитию транзиторной гипергликемии [11]. Эти данные литературы свидетельствуют о необходимости совершенствования комплексной фармакотерапии ДН [2].

В результате многолетних фундаментальных исследований, проведенных в НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, создан селективный анксиолитик афобазол (2-[2-(морфолино)этилтио]-5-этоксимизимидазола гидрохлорид), обладающий широким спектром цитопротекторного действия [7, 13]. Лечение афобазолом в эксперименте существенно снижает риск развития сердечной недостаточности у крыс с экспериментальным инфарктом миокарда. Показано, что афобазол уменьшает площадь ишемического повреждения сердца, стимулирует репаративные процессы в миокарде [14]. Существует предположение, что такой эффект может быть связан с агонистическим влиянием препарата на σ_1 -рецепторы, активация которых вызывает уменьшение зоны ишемического повреждения, защиту клетки миокарда от свободнорадикальной агрессии.

Подавление свободнорадикального окисления афобазолом может быть обусловлено способностью агонистов σ_1 -рецепторов уменьшать активность индуцибельной нитрооксидсинтазы – iNOS, что, возможно, и способствует увеличению синтеза в эндотелии ишемизированного миокарда конститутивной нитрооксидсинтазы – eNOS (NOS-3) [6, 25, 23]. Последняя, в отличие от iNOS, способствует нормализации сократительного статуса и защищает кардиомиоциты от свободнорадикального повреждения, модулируя продукцию NO. Неиндуцибельная eNOS в сосудах малого диаметра и артериях синтезирует больше NO и регулирует общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС) и распределение кровотока в сосудистой системе [3, 16]. Индуцибельная iNOS экспрессируется и функционирует в ответ на действие эндотоксинов и провоспалительных цитокинов, бактериальных липополисахаридов и для ее активации не

¹ ФГБУН Институт биомедицинских исследований ВНИЦ РАН, Россия, 362025, Владикавказ, ул. Пушкинская, 47; e-mail: patbiochem@mail.ru.

требуется кальций. Оксид азота, продуцируемый iNOS, обуславливает цитотоксическое и цитостатическое действие, в том числе и в условиях гипергликемии [24].

Вместе с тем данные литературы свидетельствуют о том, что анксиолитик афобазол обладает широким спектром цитопротекторного действия в центральной нервной системе [18], поэтому является целесообразным исследовать цитопротекторное действие афобазола в сосудистой системе и внутренних органах в условиях экспериментального СД.

Целью настоящего исследования являлось исследование влияния афобазола на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) — антиокислительной системы (АОС), концентрацию суммарных метаболитов NO и экспрессию NO-синтазы (NOS-3) при экспериментальном СД (ЭСД) у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для реализации поставленной цели мы проводили исследование на крысах с ЭСД. Исследование проведено на 105 крысах-самцах линии Вистар одной возрастной группы (10 – 14 мес), массой 220 – 250 г, полученных из вивария (питомника) ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, Владикавказ. Содержание крыс в виварии и проведение экспериментов соответствовали “Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных”, разработанным и утвержденным МЗ СССР (1977 г.), а также принципам Хельсинкской декларации (2000 г.). Аллоксановый диабет у крыс моделировали внутрибрюшинным введением 5 % водного раствора аллоксана в дозе 15 – 18 мг/100 г массы животного на фоне 24 – 48 ч голодания. Развитие диабета контролировали по уровню глюкозы крови, которую определяли глюкозооксидазным методом, а концентрацию гликированного гемоглобина — колориметрически, используя тест-наборы фирмы “Лахема”. Гуманное умерщвление и забор крови у животных проводили путем декапитации через 1 мес после эксперимента. Исследования проводили на модели ЭСД — аналога СД — типа 1 у крыс в 9 группах: 1) контрольные (интактные крысы) (N1, $n = 10$); 2) крысы с ЭСД без лечения (N2, $n = 14$); 3) крысы с L-NAME (N3, $n = 7$); 4) крысы с ЭСД + L-NAME (N4, $n = 11$); 5) крысы с L-аргинином (N5, $n = 7$); 6) крысы с ЭСД + L-аргинин (N6, $n = 11$); 7) крысы с ЭСД + афобазол в дозе 10 мг/кг 1 раз в день в течение 30 дней (N7, $n = 15$); 8) крысы с экспериментальным СД + афобазол в дозе 10 мг/кг + L-name 25 мг/кг в течение 30 дней (N8, $n = 15$); 9) крысы с ЭСД + афобазол в дозе 10 мг/кг + аргинин 10 мг/кг в течение 30 дней (N9, $n = 15$). Афобазол — селективный анксиолитик, синтезированный в ФГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова, в дозе 10 мг/кг вводили парентерально 1 раз в день в течение 30 дней; L-name — N^G нитроаргинин, метиловый эфир (“Сигма Олдридж”, США) в дозе 25 мг/кг — парентерально 1 раз в

день в течение 30 дней; L-аргинин гидрохлорид (ООО “НТК Диаэм”) в дозе 10 мг/кг парентерально 1 раз в день в течение 30 дней.

Об интенсивности ПОЛ судили по концентрации в эритроцитах малонового диальдегида (МДА), определяемого методом [22]. Степень антиокислительной защиты (АОЗ) оценивали по активности каталазы методом [12], СОД — аутоокисления адреналина [15, 19] и церулоплазмину методом Равина [10] в сыворотке крови. Используя наборы реагентов фирмы “Витал Диагностика Спб” определяли показатели обмена холестерина (ХС): концентрацию общего ХС (ОХС), ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП), триацилглицеридов (ТАГ) и по формуле Фридвальда рассчитывали концентрацию ХС липопротеинов низкой плотности (ЛНП). Содержание в сыворотке крови стабильных суммарных конечных метаболитов оксида азота (NO_2^- и NO_3^- , или NO_x) определяли с помощью реактива Грисса спектрофотометрически [17]. Уровень экспрессии eNOS в эндотелии аорты определяли методом Вестерн-блота на базе ФГБУ ГНИЦ профилактической медицины. Результаты представляли в условных единицах как отношение интенсивности полосы X к интенсивности полосы, принятой за контроль на каждой пленке. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Microsoft Excel 2003. Для статистической обработки полученных данных применялся параметрический метод сравнения средних величин (M — средняя арифметическая, $m \pm$ — коэффициент достоверности средней арифметической, p — вероятность или достоверность ошибки, n — общее число вариантов) с помощью t -критерия Стьюдента, и метод корреляционного анализа с расчетом коэффициента корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований свидетельствуют о существенном снижении концентрации МДА в эритроцитах, возрастании активности СОД в сыворотке крови под влиянием афобазола у крыс с ЭСД, а повышенные уровни каталазы и церулоплазмину достоверно снизились. В группе крыс на фоне лечения афобазолом статистически достоверно повысилась концентрация суммарных метаболитов NO в сыворотке крови. Для выяснения механизмов действия афобазола на процессы ПОЛ мы провели корреляционный анализ между МДА и активностью ферментов АОС. Данные крыс с ЭСД, получавших афобазол, выявили наличие прямой значимой корреляционной зависимости между концентрацией МДА в эритроцитах и активностью каталазы в сыворотке крови ($r = 0,60$, $p = 0,001$), концентрацией церулоплазмину ($r = 0,58$, $p = 0,001$) и обратной связи между концентрацией МДА и активностью СОД в сыворотке крови ($r = -0,61$, $p = 0,001$). На фоне введения афобазола происходило повышение концентрации суммарных метаболитов NO в сыворотке крови и корреляционный анализ показал наличие отрицатель-

ной связи этого параметра с уровнем МДА в эритроцитах ($r = -0,57, p = 0,001$) (табл. 1).

Основными механизмами метаболических нарушений при СД являются изменение экспрессии и активности eNOS, сниженный синтез NO из L-аргинина, пониженная чувствительность гладкомышечных клеток (ГМК) к NO и его деградация активными метаболитами кислорода (АМК), повышенный уровень в крови АДМА – эндогенного конкурентного ингибитора eNOS (NOS3), препятствующий нормальной продукции NO и инсулинорезистентности [26]. Аналогом АДМА является L-NAME – N^G-аргинин метиловый эфир, связывающийся с активным участком eNOS и препятствующий потоку электронов, за счет уменьшения восстановленного потенциала железа гема [21]. Принимая во внимание вышеизложенное, считали необходимым исследовать влияние регуляторов eNOS – L-аргинина, L-NAME и их комбинацию с афобазолом на состояние системы ПОЛ – АОС и метаболизм NO.

Таким образом, афобазол угнетает ПОЛ, корректирует взаимоотношения между ферментами АОЗ и способствует повышению концентрации суммарных метаболитов NO, хотя уровень их содержания не достигает контрольных значений (группа 1). Полученные нами данные демонстрируют мембранопротекторные

свойства афобазола *in vivo* при СД в эксперименте и соответствуют данным [8, 9].

Результаты прямых исследований, направленных на выявление уровня экспрессии eNOS в эндотелии сосудов при СД под влиянием афобазола, в доступной литературе отсутствуют. Мы определяли уровень экспрессии фермента eNOS в эндотелии аорты крыс с ЭСД на фоне применения афобазола.

Исследования показали повышение уровня экспрессии фермента на фоне 30-суточного введения афобазола в дозе 10 мг/кг (табл. 2).

Таким образом, наши исследования впервые показали, что *in vivo* при ЭСД у крыс афобазол, угнетая свободно-радикальное окисление и восстанавливая активность СОД, способствует повышению экспрессии eNOS и, соответственно, концентрации NO.

Ряд факторов влияют на экспрессию eNOS и эффективность образования NO: доступность субстрата – L-аргинина, наличие эндогенного ингибитора фермента eNOS – ассиметричного диметиларгинина, состояние коферментов (НАДФН, тетрагидробиоптерина и др.), окисленных ЛНП, вызывающих атерогенные изменения сосудистой стенки.

Учитывая вышеизложенное, мы исследовали изменение показателей обмена ХС: концентрацию ОХС,

Таблица 1. Биохимические показатели сыворотки крови на фоне эндогенных регуляторов eNOS и антиоксидантов у крыс с ЭСД ($M \pm m$)

Группа	МДА, нмоль/мл	NO, мкмоль	СОД, ед. акт.	Каталаза, мкат/л	ЦП, мг/л
N	6,87 ± 0,044	51,069 ± 0,5	88,2 ± 1,07	225,56 ± 25,57	338,66 ± 6,365
ЭСД	8,65 ± 0,031 $p < 0,001^1$	32,54 ± 1,56 $p < 0,001^1$	64,4 ± 1,53 $p < 0,001^1$	345,33 ± 3,16 $p < 0,001^1$	467,6 ± 8,945 $p < 0,001^1$
L-аргинин	6,8 ± 0,017 $p < 0,001^2$	53,25 ± 0,412 $p < 0,01^1$; $p < 0,001^2$	88,8 ± 1,031 $p < 0,001^2$	221,72 ± 1,056 $p < 0,001^2$	336,3 ± 1,43 $p < 0,001^2$
L-NAME	7,213 ± 0,012 $p < 0,01^1$; $p < 0,001^2$	33,13 ± 0,595 $p < 0,01^1$	82,1 ± 1,24 $p < 0,01^1$; $p < 0,001^2$	310,03 ± 2,054 $p < 0,01^1$; $p < 0,001^2$	360,2 ± 6,697 $p < 0,02^1$; $p < 0,001^2$
ЭСД + L-NAME	9,186 ± 0,009 $p < 0,001^{1)2)3)}$	30,74 ± 0,567 $p < 0,001^{1)3)}$	61,5 ± 2,63 $p < 0,001^{1)3)}$	382,14 ± 1,58 $p < 0,001^{1)2)3)}$	497,1 ± 5,25 $p < 0,001^{1)3)}$; $p < 0,01^2)$
ЭСД + L-аргинин	7,88 ± 0,021 $p < 0,01^{1)3)}$ $p < 0,001^{1)2)3)4)5)}$	42,27 ± 0,893 $p < 0,001^{1)2)3)4)}$ $p < 0,05^5)$	70,3 ± 1,096 $p < 0,01^2)$ $p < 0,001^{1)2)3)4)5)}$	320,2 ± 2,08 $p < 0,01^1$; $p < 0,02^1$; $p < 0,001^{2)3)4)5)}$	419,8 ± 6,806 $p < 0,001^{1)2)3)4)5)}$; $p < 0,01^3)$
ЭСД + афобазол	7,26 ± 0,061 $p < 0,001^{1)2)4)}$	48,7 ± 0,844 $p < 0,02^1$; $p < 0,001^{2)3)4)}$	74,6 ± 1,55 $p < 0,001^{1)2)4)}$; $p < 0,01^3)$	307,6 ± 3,35 $p < 0,01^1$; $p < 0,001^{2)4)}$	394,2 ± 4,86 $p < 0,001^{1)2)3)4)}$
ЭСД + L-NAME + афобазол	8,01 ± 0,053 $p < 0,001^{1)2)3)4)5)}$	40,23 ± 0,62 $p < 0,001^{1)2)3)4)5)}$	70,1 ± 1,51 $p < 0,001^{1)3)}$; $p < 0,01^{2)5)}$; $p < 0,05^5)$	338,15 ± 1,84 $p < 0,001^{1)3)4)5)}$ $p < 0,05^2)$	430,1 ± 5,08 $p < 0,001^{1)3)4)5)}$; $p < 0,01^2)$
ЭСД + L-аргинин + афобазол	7,03 ± 0,014 $p < 0,01^{1)5)}$; $p < 0,001^{2)3)4)}$	50,54 ± 0,472 $p < 0,001^{2)3)4)}$; $p < 0,05^5)$	82,5 ± 1,276 $p < 0,01^1$; $p < 0,001^{2)3)4)5)}$	283,64 ± 1,42 $p < 0,05^1$; $p < 0,001^{2)3)4)5)}$	351,4 ± 2,676 $p < 0,001^{2)3)4)5)}$

¹⁾ достоверность относительно нормы; ²⁾ относительно ЭСД; ³⁾ относительно L-NAME; ⁴⁾ относительно ЭСД + L-NAME; ⁵⁾ между 7/8,9; 10/11,12; 13/14,15.

Таблица 2. Изменение уровня экспрессии eNOS под влиянием афобазола и его комбинации с L-аргинином и L-NAME ($M \pm m$)

Вариант исследований	eNOS, ед.	<i>p</i>
Аргинин (интактные крысы)	1,05 ± 0,087	
ЭСД + аргинин	0,65 ± 0,104	< 0,01 ¹
ЭСД + аргинин + афобазол	1,51 ± 0,12	< 0,01 ¹ ; < 0,001 ²
L-NAME (интактные крысы)	0,567 ± 0,088	
ЭСД + L-NAME	0,305 ± 0,003	< 0,01 ³
ЭСД + L-NAME + афобазол	0,753 ± 0,199	< 0,001 ⁴

Достоверность: ¹) относительно аргинина; ²) относительно ЭСД и аргинина; ³) относительно L-NAME; ⁴) относительно ЭСД и L-NAME.

ХС ЛВП, ХС ЛНП, ТАГ на фоне применения афобазола у крыс с ЭСД. Анализ данных содержания общего ХС в сыворотке крови и его распределения в липопротеинах различной плотности показал, что на фоне различных комбинаций препаратов происходит статистически достоверное снижение концентрации ОХС, повышение ХС ЛВП и значительное снижение ХС ЛНП. Одновременно снижается и концентрация ТАГ в сыворотке крови (табл. 3).

Для выяснения взаимосвязи между концентрацией NO и содержанием ЛНП в сыворотке крови мы провели корреляционный анализ и выявили наличие отрицательной связи между этими показателями ($r = -0,69$, $p = 0,001$). Следовательно, снижение концентрации ОХС и ХС ЛНП в условиях угнетения ПОЛ могло способствовать повышению активности eNOS. Для выяснения этого вопроса мы изучали влияние афобазола на доступность субстрата – L-аргинина для eNOS в другом варианте исследований. Мы вводили афобазол на фоне L-аргинина в дозе 10 мг/кг в течение 30 дней крысам с СД. По окончании эксперимента оп-

ределяли в сыворотке крови концентрацию суммарных метаболитов NO и показатели окислительного стресса. Отмечено повышение концентрации продуктов метаболизма NO при ЭСД под влиянием L-аргинина на 23,4 %, $p = 0,001$; и более существенно – на фоне комбинированного введения L-аргинина с афобазолом на 35,6 %, $p = 0,001$. Сравнительный анализ данных у крыс с ЭСД показал более существенное снижение концентрации МДА и повышение концентрации NO на фоне комбинации L-аргинина с афобазолом по сравнению с монотерапией афобазолом в среднем на 10,8 %, $p = 0,001$.

Эти данные подтверждают, что афобазол повышает биодоступность субстрата L-аргинина для eNOS и, соответственно, концентрацию суммарных метаболитов NO. Возможно, афобазол в комбинации с L-аргинином оказывает влияние и на активность фермента. Исследование экспрессии eNOS в эндотелии аорты крыс на фоне комбинированного введения L-аргинина и афобазола показало повышение уровня экспрессии eNOS на 56,7 %, $p = 0,001$.

Применение ингибитора фермента eNOS – L-NAME – сопровождалось значительным снижением концентрации NO в сыворотке крови на 5,53 % ($p < 0,001$), вследствие угнетения экспрессии eNOS на 59,5 %, $p = 0,05$, тогда как введение афобазола на фоне L-NAME вызвало повышение концентрации суммарных метаболитов NO на фоне сниженного уровня МДА ($p < 0,001$). Аналог эндогенного ингибитора АДМА – неселективный ингибитор L-NAME разобщает взаимосвязь между оксидазным и редуктазным доменами eNOS, фермент продуцирует активные метаболиты кислорода и меньше – оксид азота. Активные радикалы кислорода стимулируют липопероксидацию и повышение концентрации МДА. Полученные

Таблица 3. Липидный спектр крови крыс с ЭСД на фоне введения эндогенных регуляторов eNOS и антиоксидантов ($M \pm m$)

Группа	ХС, ммоль/л	ХС ЛВП, ммоль/л	ХС ЛНП, ммоль/л	ТАГ, ммоль/л
N	1,88 ± 0,033	0,673 ± 0,01	1,098 ± 0,026	0,246 ± 0,011
ЭСД	3,896 ± 0,161 $p < 0,001$ ¹⁾	0,556 ± 0,012 $p < 0,001$ ¹⁾	3,124 ± 0,15 $p < 0,001$ ¹⁾	0,476 ± 0,018 $p < 0,001$ ¹⁾
L-NAME	1,88 ± 0,023 $p < 0,001$ ²⁾	0,652 ± 0,0075 $p < 0,001$ ²⁾	1,114 ± 0,023 $p < 0,001$ ²⁾	0,251 ± 0,009 $p < 0,001$ ²⁾
L-аргинин	1,841 ± 0,03 $p < 0,001$ ²⁾	0,699 ± 0,008 $p < 0,05$ ¹⁾ ; $p < 0,001$ ²⁾	1,036 ± 0,031 $p < 0,001$ ²⁾	0,239 ± 0,012 $p < 0,001$ ²⁾
ЭСД + L-NAME	3,898 ± 0,013 $p < 0,001$ ¹⁾	0,466 ± 0,006 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾	3,21 ± 0,015 $p < 0,001$ ¹⁾	0,489 ± 0,008 $p < 0,001$ ¹⁾
ЭСД + L-аргинин	3,546 ± 0,013 $p < 0,001$ ¹⁾ ; $p < 0,05$ ²⁾	0,572 ± 0,012 $p < 0,001$ ¹⁾	2,766 ± 0,015 $p < 0,001$ ¹⁾ ; $p < 0,02$ ²⁾	0,458 ± 0,008 $p < 0,001$ ¹⁾
ЭСД + афобазол	2,493 ± 0,04 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾³⁾	0,601 ± 0,003 $p < 0,001$ ¹⁾³⁾ ; $p < 0,01$ ²⁾	1,706 ± 0,044 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾³⁾	0,41 ± 0,019 $p < 0,001$ ¹⁾³⁾ ; $p < 0,02$ ²⁾
ЭСД + L-NAME + афобазол	2,547 ± 0,017 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾³⁾	0,594 ± 0,009 $p < 0,001$ ¹⁾³⁾ ; $p < 0,02$ ²⁾	1,758 ± 0,024 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾³⁾	0,43 ± 0,006 $p < 0,001$ ¹⁾³⁾ ; $p < 0,02$ ²⁾
ЭСД + L-аргинин + афобазол	2,409 ± 0,014 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾³⁾	0,613 ± 0,008 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾ ; $p < 0,01$ ³⁾	1,637 ± 0,019 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾³⁾	0,35 ± 0,013 $p < 0,001$ ¹⁾²⁾³⁾

Достоверность: ¹) относительно нормы; ²) относительно ЭСД; ³) относительно L-NAME и L-аргинина.

нами данные демонстрируют мембранопротекторные свойства афобазола *in vivo* при СД в эксперименте и соответствуют данным [8, 9], хотя эти данные были получены не при СД *ex vivo* и методом микроскопии.

ВЫВОДЫ

1. У крыс с ЭСД афобазол ингибирует свободно-радикальное окисление, устраняет дисбаланс в системе ПОЛ – АОС, способствует повышению уровня экспрессии eNOS и концентрации NO.

2. Стимулирующее влияние афобазола на NO-продуцирующую функцию эндотелиальных клеток сосудистой стенки реализуется путем повышения доступности субстрата L-аргинина и торможением влияния эндогенного ингибитора eNOS – АДМА, аналогом которого является L-NAME. Повышению биодоступности L-аргинина способствовало снижение содержания общего ХС, атерогенных ЛНП и их окисленных производных в сыворотке крови.

Выражаем искреннюю благодарность директору НИИ фармакологии им. В. В. Закусова академику РАН Середенину С. Б. за предоставленную возможность работы с химически чистым препаратом афобазол.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. И. Балаболкин, *Диабетология*, Медицина, Москва (2000).
2. М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Кремская, *Международ. неврол. ж.*, **12**(6), 31 – 36 (2007).
3. А. Ф. Ванин, *Сорос, образовательный ж.*, **7**(11), 7 – 12 (2001).
4. И. А. Волчегорский, Н. В. Местер, О. Г. Зотова, *Ж. неврол. и психиатр.*, № 9, 12 – 16 (2006).
5. И. А. Волчегорский, Л. М. Рассохина, И. Ю. Мирошниченко, *Проблемы эндокринолог.*, **55**(4), 20 – 24 (2009).
6. А. П. Власов, Т. И. Григорьева, Н. Ю. Лещанкина и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(6), 10 – 13 (2010).
7. С. Г. Дзугкоев, Ф. С. Дзугкоева, Н. Г. Гуманова, В. А. Метельская, *Вопросы биол., мед. и фармац. химии*, **10**(11), 49 – 53 (2012).
8. Т. А. Зенина, И. В. Гавриш, Д. С. Мелкумян и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **140**(8), 161 – 163 (2005).
9. Т. А. Зенина, И. В. Силкина, С. Б. Середенин и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, № 4, 45 – 47 (2006).
10. В. С. Камышников, *Клин.-биохим. лабор. диаг.*, № 2, 71 – 77 (2003).
11. М. В. Коркина, Е. В. Ефимова, *Ж. неврол. и психиатр.*, **103**(12), 66 – 70 (2003).
12. М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, *Лаб. дело*, № 1, 16 – 19 (1988).
13. В. А. Крайнева, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **149**(2), 165 – 168 (2010).
14. С. А. Крыжановский, А. В. Сорокина, В. Н. Столярук и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **150**(9), 284 – 287 (2010).
15. О. П. Макаревич, П. П. Голиков, *Лаб. дело*, № 6, 24 – 27 (1983).
16. Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев, Ю. В. Архипенко, *Вестник РАМН*, № 4, 16 – 21 (2000).
17. В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова, *Клин. лаб. диагностика*, № 6, 15 – 18 (2005).
18. С. Б. Середенин, М. В. Воронин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(1), 3 – 11 (2009).
19. Т. В. Сирота, *Вопросы мед. химии*, № 3, 263 – 272, (1999).
20. А. Б. Смулевич, *Депрессии при соматических и психических заболеваниях*, Мед. информ. агентство, Москва (2003).
21. Н. М. Abu-Soud, P. L. Feldman, P. Clark, *J. Biol. Chem.*, № 269, 32318 – 32326 (1994).
22. T. Asakawa, S. Matsushita, *Lipids*, № 15, 137 – 140 (1980).
23. V. Halliwell, *J. Neurochem.*, № 97, 1634 – 1658 (2006).
24. Z. Madar, S. Kalet-Litman, A. Stark, *Pharmacology*, № 73, 106 – 112 (2005).
25. K. T. Tchedre, R. Q. Huang, A. Dibas, et al., *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*, **49**(11), 4993 – 5002 (2008).
26. K. Toutouzas, M. Riga, E. Stefanidi, et al., *Horm Metab Res.*, № 40, 655 – 659 (2008).

Поступила 12.02.16

MECHANISMS OF AFOBAZOLE INFLUENCE ON THE NO PRODUCING ENDOTHELIUM FUNCTION AND INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

S. G. Dzugkoev*, F. S. Dzugkoeva, I. V. Mozhaeva, O. I. Margieva, and N. M. Karchaidze

Institute of Biomedical Research, Vladikavkaz Scientific Center, Russian Academy of Sciences, ul. Pushkinskaya 40, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia—Alania, 362025 Russia;

* e-mail: patbiochem@mail.ru

Data on the mechanisms of afobazole effect on the NO-producing function of endothelium under conditions of oxidative stress in rats with experimental diabetes mellitus are presents. It is established for the first time that the drug *in vivo* inhibits the intensity of lipid peroxidation, reduces the concentration of malonic dialdehyde in red blood cells up to 16.07% ($p = 0.05$), increases superoxide dismutase activity by 13.6% ($p = 0.05$), and increases the total concentration of nitric oxide metabolites in blood serum by 33.3% ($p = 0.001$). The drug effect on NO-producing function of endothelium is due to the increased availability of L-arginine to NO-synthase (NOS-3), reduced level of atherogenesis risk factor (LDL cholesterol in serum), and increased expression of NOS-3 in vascular endothelium on the average by 30.5% ($p = 0,001$).

Keywords: lipid peroxidation; antioxidant system; afobazole; diabetes mellitus; NO production; endothelial dysfunction; rats.