

УДК 57.084.1

ПОКАЗАТЕЛИ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ 1-ГИДРОКСИЭТАН-1,1-ДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Чуян Е. Н., Раваева М. Ю., Придатко А. И., Чертаев И. В., Шульгин В. Ф.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: ravaevam@yandex.ru*

Проведено исследование изменений показателей кардиореспираторной системы крыс при действии дифосфона, или 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты. Зарегистрированы дозозависимые изменения показателей кардиореспираторной системы у животных при введении дифосфона, которые проявлялись в разнонаправленном изменении показателей тканевой микрогемодинамики и частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, артериального давления. Дифосфон в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает гипотензивное, отрицательное хронотропное влияние, уменьшает частоту дыхания, улучшает процессы тканевой микрогемодинамики, а в дозах 100-200 мг/кг оказывают гипертензивное, положительное хронотропное влияние, повышает частоту дыхания на фоне тенденции к снижению показателей микроциркуляции относительно значений данных показателей в контроле.

Ключевые слова: биоскрининг, 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота, кардиореспираторная система, частота сердечных сокращений, частота дыхания, артериальное давление, показатели микроциркуляции, летальная доза.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проведение биологического скрининга эффективности и безопасности новых синтезированных химических соединений (кандидатов в лекарственные средства, БАДы) является одной из приоритетных задач государственной политики Российской Федерации в области развития фармакологической промышленности, сформулированной в «Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 г.», и направлено на решение крупной научной проблемы, имеющей важное значение для развития экономики Республики Крым и Российской Федерации в целом, а именно на разработку технологии снижения потерь от социально значимых заболеваний (Перечень критических технологий Российской Федерации, утвержденный Указом Президента РФ от 7 июля 2011 г. N 899).

В связи с этим исследование и выявление биологической активности новых синтезированных и природных соединений: их влияние на сердечно-сосудистую, дыхательную, нервную и другие системы организма является одним из актуальных направлений исследований физиологии и медицины.

В качестве тестируемых соединений могут выступать химические новосинтезированные соединения, у которых обнаружены и/или имеются желаемые свойства [1]. В частности, среди соединений с высокой биологической активностью

выделяются производные дифосфона [2]. Дифосфон, или 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота (ГДК), является химическими веществом из группы бисфосфонатов, которое обладает рядом уникальных эффектов [3]: используется в медицине в качестве основного действующего компонента в составе препаратов ксидифон и этидронат для лечения остеопороза [4], опухолевых поражений костей [5], других костных и онкологических заболеваний [6], обладает антирезорбционной активностью [7], оказывает влияние на обмен кальция в костной ткани [8], а, следовательно, является основой для синтеза ряда производных, обладающих выраженной биологической активностью [9]. Как известно [10], кальций и АТФ принимают ключевое участие в функционировании организма на клеточном уровне организации. Ряд исследований показали способность 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты включаться в молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) [11] и, образуя негидролизуемые аналоги АТФ [12], ингибировать АТФ-зависимые клеточные процессы, вызывая таким образом, апоптоз остеокластов [13]. Механизм действия ГДК на костную ткань заключается в стимулировании апоптоза остеокластов, тем самым предотвращая разрушение костной ткани [14]. Однако данные о влиянии бисфосфонатов на сердечно-сосудистую систему в литературе на сегодняшний день отсутствуют за исключением исследований, в которых показана возможность развития мерцательной аритмии при длительном пероральном приеме бисфосфонатов [15].

Таким образом, имеющиеся данные не отражают в полной мере действие ГДК на кардиореспираторную систему (КРС), возможные побочные эффекты и, следовательно, не представляется возможным судить о его безопасном применении в качестве действующего компонента при разработке препаратов нового поколения. Следовательно, целью настоящего исследования явилось выявление влияния ГДК в разных концентрациях на основные показатели КРС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики КФУ имени В.И. Вернадского.

Для эксперимента отбирали здоровых половозрелых самцов и самок лабораторных крыс массой 180–200 г линии Вистар («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапшолово»»), прошедших карантин не менее 14 дней. Животных содержали в стандартных условиях вивария при температуре 18–22°C на подстилке «Рехофикс МК 2000» (на основе початков кукурузы) с естественным 12-часовым свето-темновым циклом, свободным доступом к воде (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур») и полноценному гранулированному корму ГОСТ Р-50258-92.

Экспериментальные исследования проводились на 84 белых крысах (42 самца и 42 самки), характеризующихся средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью в тесте «открытого поля» которые составляют большинство в популяции, и поэтому у них развивается наиболее типичная реакция на действие

различных факторов [16], в том числе и тестируемых химических соединений. После предварительного отбора животных разделили на 6 групп по 14 крыс в каждой, 7 из которых самцы, 7 – самки.

Первая группа являлась биологическим контролем (К); вторая – пятая группы животных – экспериментальные (Э), получавшие ГДК внутривенно (объем 0,2 мл) в концентрациях 5, 50, 100, 150 и 200 мг/кг (Э-5, Э-50, Э-100, Э-150, Э-200) соответственно.

Тестируемое вещество было синтезировано на кафедре общей и неорганической химии факультета биологии и химии Таврической академии ФГАОУ «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского» (химическая чистота составляла не менее 98,0%).

Биоскрининг ГДК проводился через 1 час [17] после внутривенного введения ГДК в указанных концентрациях. При этом животным контрольной группы одновременно вводили физиологический раствор (NaCl, 0,9%) того же объема. После этого у животных всех групп регистрировали показатели кардиореспираторной системы: частоту сердечных сокращений (ЧСС), частоту дыхания (ЧД), систолическое (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД), а также показатели микроциркуляции (Мц). На основании показателей АД рассчитывалось пульсовое давление (ПД), которое представляет собой разницу между показателями САД и ДАД.

АД, ЧСС и ЧД у крыс регистрировали с помощью системы NIBP200A («Vioras Systems, Inc.», США). АД и ЧСС фиксировалось с хвостовой артерии путем наложения манжеты на основание хвоста. Для записи ЧД датчик фиксировался на область грудной клетки. При регистрации показателей животные помещались в индивидуальный пенал и переносились в камеру Vioras с постоянной поддерживаемой температурой 33⁰С для создания комфортных условий для животного.

Запись показателей проводилась в течение 5 минут от момента стабилизации сигналов от датчиков. Этого времени достаточно для 5-кратного измерения АД, при этом ЧСС и ЧД регистрировались непрерывно. Запись и обработка данных производилась на компьютере с помощью программы «AcqKnowledge 4.2 for MP150».

Регистрация Мц проводилась при помощи лазерного анализатора кровотока «Лазма-МЦ» (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 2.20.0.507WL. В качестве параметров, анализируемых методом ЛДФ, регистрировали неосцилляторные показатели базального кровотока: показатель перфузии (ПМ, перф. ед.), среднее квадратичное отклонение (флакс, СКО, перф. ед.), коэффициент вариации (КВ, %) [17]. С помощью вейвлет-анализа ЛДФ-сигнала определяли амплитуды колебаний кровотока разных частотных диапазонов. Наиболее низкая частота (0,0095-0,02 Гц) характерна для эндотелиальных колебаний, обусловленных периодическими сокращениями цитоскелета эндотелиоцитов. Эндотелиальные колебания отражают воздействие гуморально-метаболических факторов на микрососудистое русло и характеризуют состояние нутритивного кровотока [18]. Колебания в частотах 0,07–0,15 Гц, или миогенные

колебания, обусловлены периодической активностью гладкомышечных волокон артериол, приводящих к изменению диаметра их просвета (вазомоции) [19]. На такую периодичность констрикции и дилатации микрососудов накладываются нейрогенные колебания (0,02–0,046 Гц), отражающие симпатическую регуляторную активность [21]. К высокочастотным колебаниям относятся дыхательные (0,15–0,4 Гц) и пульсовые (0,8–0,16 Гц). Дыхательные волны представлены периодическими изменениями давления в венозном отделе сосудистого русла, вызываемыми дыхательными экскурсиями грудной клетки [22]. Пульсовые колебания кровотока обусловлены перепадами внутрисосудистого давления, которые в большей или меньшей степени синхронизированы с кардиоритмом [23].

Для статистической обработки были использованы данные трёх повторений эксперимента. Применялись непараметрические методы статистики, поскольку распределение значений переменных отличалось от нормального. Расчеты, статистическая обработка и графическое оформление полученных в работе данных по действия тестируемых соединений проводились с использованием программы Microsoft Excel и программного пакета StatSoft\STATISTICA 8. Достоверность статистических различий между контрольной (внутрибрюшинное введение физиологического раствора) и экспериментальными группами с различными дозами введения ГДК (5, 50, 100, 150 и 200 мг/кг) определяли с помощью критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В диапазоне используемых концентраций было отмечено изменение исследуемых параметров у животных под влиянием ГДК. Установлено, что при использовании дозы ГДК 5 мг/кг и 50 мг/кг наблюдалось снижение АД, а при увеличении дозы исследуемого вещества – их повышение относительно контроля. Так, в дозе 5 мг/кг показатели САД и ДАД снижались на 6,0 % ($p \leq 0,05$) и 11,3 % ($p \leq 0,05$), а при 50 мг/кг – на 7,0 % ($p \leq 0,05$) и 9,6 % ($p \leq 0,05$) соответственно по сравнению с таковыми в контрольной группе животных. При увеличении концентрации ГДК до 100, 150 и 200 мг/кг происходило достоверное повышение АД относительно значений в контроле (рис. 1). Максимальные значения этих показателей зарегистрированы в дозе 200 мг/кг и превысили контрольные показатели на 27,9% ($p \leq 0,05$).

Анализ половых различий в изменении показателей КРС показал, что направленность действия ГДК у самцов и самок идентична, однако выраженность изменений показателей у самцов была выше. При этом различия между изменениями показателей под влиянием ГДК у самцов и самок при действии в дозах 5 и 50 мг/кг были не достоверны, а достоверные различия появлялись только при введении вещества в дозах 100–200 мг/кг. Так, ГДК в дозе 100 мг/кг у самцов показатели САД и ДАД превышали таковые у самок на 6,7% и 10,0% ($p \leq 0,05$). При использовании дозы 150 мг/кг значение показателя САД у самцов превосходило САД самок на 7,0% ($p \leq 0,05$), однако, значения ДАД оказались ниже, чем у самок на 12,0% ($p \leq 0,05$). В дозе 200 мг/кг значения САД и ДАД у самцов превышали таковые у самок на 17,1% ($p \leq 0,05$) и 20,8% ($p \leq 0,05$) соответственно (см. рис. 1). Исходя из

полученных данных, можно сделать вывод о большей чувствительности самцов по сравнению с самками к более высоким концентрациям ГДК.

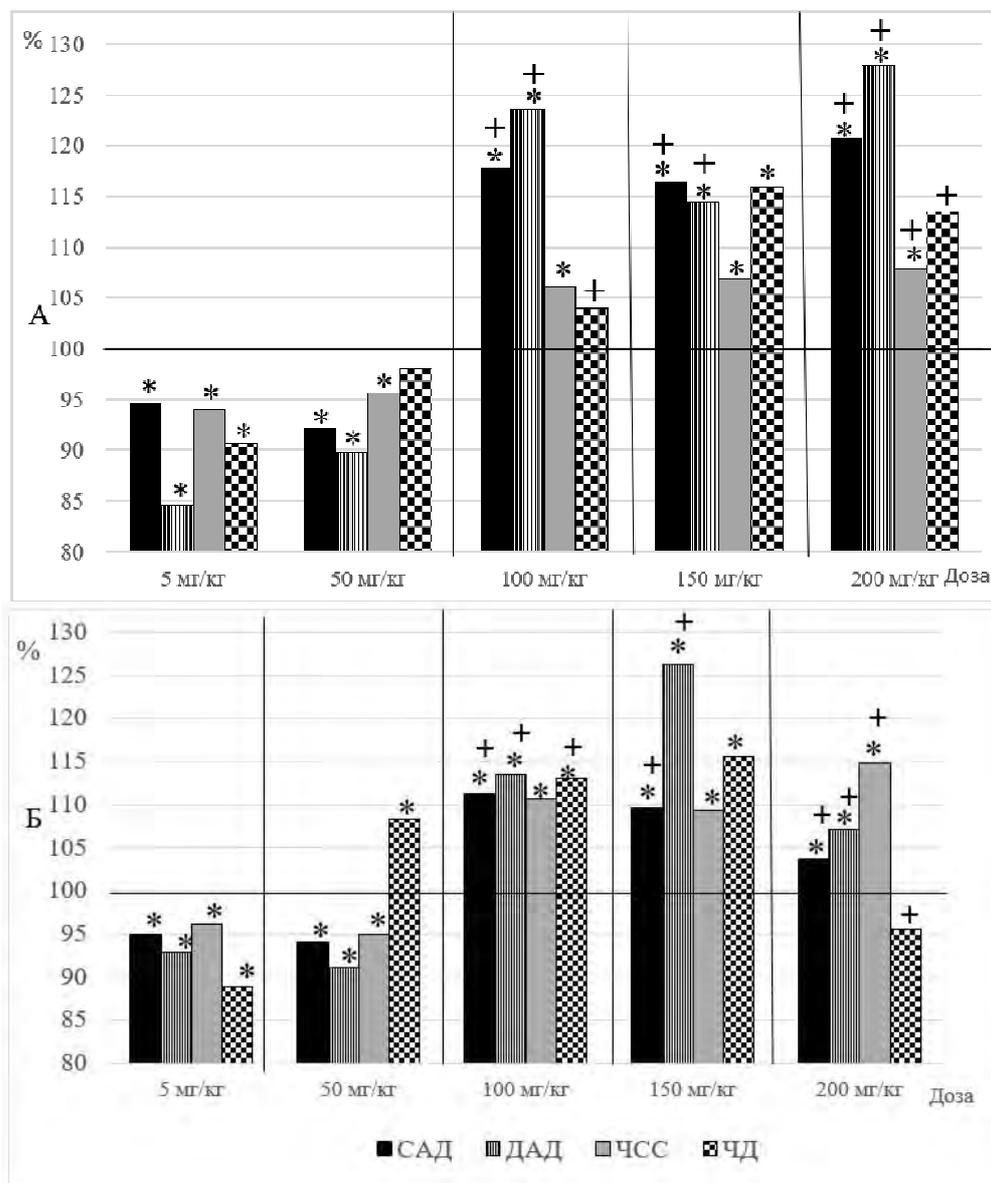


Рис. 1. Зависимость показателей кардиореспираторной системы крыс самцов (А) и самок (Б) от дозы 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты
 Примечание: * – уровень достоверности различий по критерию Манна-Уитни относительно значений показателей в контроле; + – уровень достоверности относительно половой принадлежности; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений; ЧД – частота дыхания.

Частота сердечных сокращений после введения ГДК в дозе 5 мг/кг достоверно снизилась на 5,0 % ($p \leq 0,05$), а при использовании дозы 50 мг/кг – на 4,5 % ($p \leq 0,05$). Показатель ЧСС в дозе 100 мг/кг превысил контрольные значения в среднем на 8,0% ($p \leq 0,05$). При увеличении концентрации препарата до 150 и 200 мг/кг наблюдалось повышение исследуемого параметра на 8,1 % ($p \leq 0,05$) и 11,2 % ($p \leq 0,05$) соответственно относительно значений таковых показателей в контрольной группе животных (см. рис. 1). Значения ЧСС на протяжении всего эксперимента у самок превосходили значения ЧСС у самцов, что свидетельствует о более высокой чувствительности самок к действию ГДК, однако в дозе 200 мг/кг, наоборот, ЧСС у самок превысила контрольное значение на 7,8% ($p \leq 0,05$), а у самцов на – 14,9 % ($p \leq 0,05$) соответственно.

Частота дыхания при использовании дозы ГДК 5 мг/кг снизилась на 10,2 % ($p \leq 0,05$), при дозе 50 мг/кг достоверное увеличение ЧД наблюдалось только у самок. При увеличении дозы ГДК ЧД повышалась на 8,3 % ($p \leq 0,05$) в концентрации 100 мг/кг и на 15,8 % при использовании дозы 150 мг/кг ($p \leq 0,05$) (см. рис. 1). Достоверных половых отличий в изменениях ЧД под влиянием ГДК не обнаружено.

Таким образом, ГДК вызывает изменения показателей кардиореспираторной системы лабораторных животных. При этом выраженность и направленность изменений этих показателей зависит от дозы ГДК: вещество в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает гипотензивное, отрицательное хронотропное влияние, урежает частоту дыхания; высокие дозы вещества (100–200 мг/кг) оказывают гипертензивное, положительное хронотропное влияние и повышают частоту дыхания. При использовании доз ГДК 5 мг/кг и 50 мг/кг половых различий в реакции КРС не обнаружено, дальнейшее повышение доз данного соединения до 100 и 200 мг/кг приводит к появлению таковых в отношении показателя АД причем, у самцов были зарегистрированы достоверно более высокие значения данных показателей, чем у самок.

Как показали проведенные исследования, ГДК оказывает влияние и на изменение показателей Мц, при этом половые отличия в реакциях Мц на действие ГДК не выявлены, поэтому приводятся усредненные данные для самцов и самок.

Исследование показателей тканевой микрогемодинамики показало, что введение ГДК в дозе 5 мг/кг приводит к достоверному увеличению амплитуд колебаний эндотелиального (Аэ, на 52,2 %, $p \leq 0,05$), нейрогенного (Ан, на 42,2 %, $p \leq 0,05$), миогенного (Ам, на 22 %, $p \leq 0,05$) ритмов, интегрального показателя микроциркуляции (ПМ, на 56 %, $p \leq 0,05$) на фоне снижения амплитуд пульсовых колебаний (Ас, на 26 %, $p \leq 0,05$) по отношению к таковым в контрольной группе животных (рис. 2).

Увеличение дозы ГДК до 50 мг/кг привело к прогрессивному увеличению Аэ на 77 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 45 % ($p \leq 0,05$), Ам – на 39 % ($p \leq 0,05$), ПМ – на 57 % ($p \leq 0,05$) по отношению к значениям данных показателей в контрольной группе животных (см. рис. 2).

Дальнейшее повышение дозы до 100-200 мг/кг вызвало снижение всех показателей Мц. Так, при введении ГДК в дозе 100 мг/кг Аэ снижается на 72,7 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 49,7 % ($p \leq 0,05$), Ам – 54,4 % ($p \leq 0,05$), Ад – 39,5 % ($p \leq 0,05$),

Ас – 24 % ($p \leq 0,05$), Пм – 67,9 % ($p \leq 0,05$) относительно значений показателей, зарегистрированных у животных после введения дозы ГДК 50 мг/кг. Необходимо отметить, что данные изменения Мц при введении ГДК в дозах 100-200 мг/кг были недостоверны по сравнению с таковыми в контрольной группе животных, за исключением изменения показателя Ад, снижение которого на 27 % ($p \leq 0,05$) свидетельствует об уменьшении тонуса венул и развитии венозного застоя при введении ГДК в дозе 200 мг/кг.

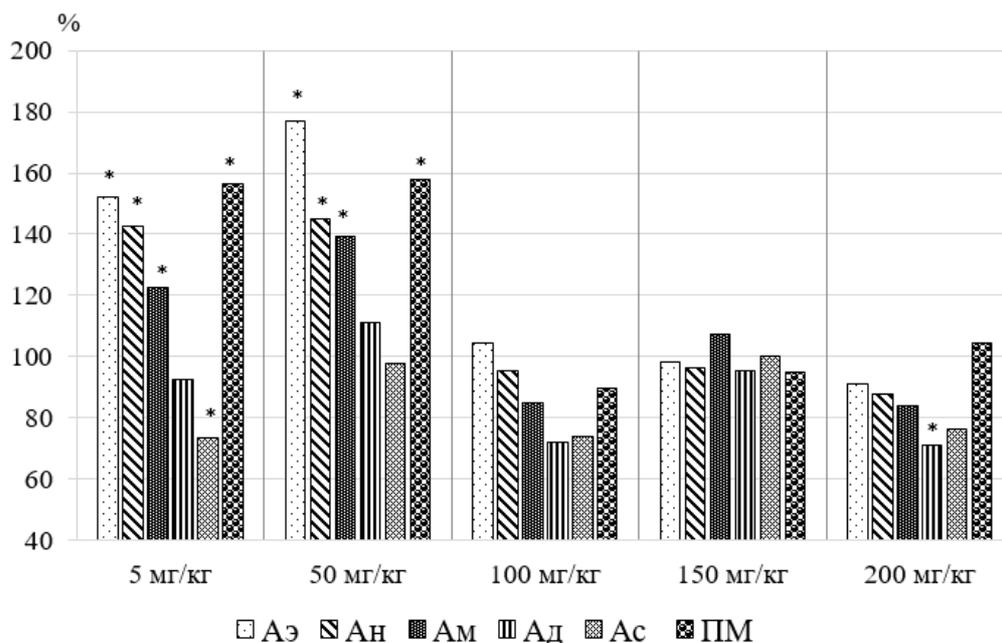


Рис. 2. Показатели микроциркуляции при действии 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты в разных концентрациях (в % по отношению к значениям в контрольной группе, принятым за 100%).

Примечания: * – достоверность различий показателей у животных экспериментальной группы с таковыми у животных контрольной группы по критерию Манна-Уитни при $p \leq 0,05$; Аэ – амплитуды эндотелиального генеза, Ан – амплитуды нейрогенных колебаний, Ам – амплитуды миогенных колебаний, Ад – амплитуды дыхательных колебаний, Ас – амплитуды пульсовых колебаний, ПМ – показатель перфузии.

Таким образом, ГДК в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает существенное влияние как на ПМ, так и на амплитуды выделенных ритмов ЛДФ-граммы. Поскольку Аэ синхронизированы с периодическим релизингом оксида азота (NO) эндотелием сосудов [20], то повышение данного показателя свидетельствует об увеличении секреции NO эндотелием и, как следствие, развитии эндотелий-зависимой вазодилатации. Повышение амплитуд колебаний ЛДФ-граммы в нейрогенном диапазоне (Ан), которые связаны с симпатическими адренергическими влияниями на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков артерио-венулярных

анастомозов [20] отражает снижение периферического сопротивления в данных областях микрорусла, следствием чего является улучшение нутритивного кровотока. Увеличение амплитуд миогенных ритмов (Ам) отражает снижение тонуса прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол [24]. Поскольку известно, что ритмы данного диапазона обусловлены колебаниями концентрации Ca^{2+} через мембраны мышечных клеток [24, 25], следовательно, повышение Ам свидетельствует о снижении тонуса прекапилляров вследствие развития Ca^{2+} -зависимой мышечной релаксации под влиянием исследуемых веществ. Данные изменения микрогемодинамики нашли свое отражение в увеличении интегрального показателя микроциркуляции ПМ, что указывает на увеличение перфузии крови.

Следовательно, зарегистрированы дозозависимые изменения показателей КРС у животных при введении ГДК, которые проявлялись в разнонаправленном изменении показателей тканевой микрогемодинамики и показателей АД, ЧСС и ЧД. Так, при введении ГДК в дозах 5 и 50 мг/кг наблюдалось достоверное изменение активности практически всех компонентов регуляции микрососудистого тонуса (кроме Ад), что выражалось в увеличении эндотелий-зависимой вазодилатации, снижении периферического сопротивления, увеличении притока крови в нутритивное микрососудистое русло, улучшении веноулярного оттока. Указанные изменения показателей микрогемодинамики в дозах ГДК 5 и 50 мг/кг находят свое отражение и на системном уровне, что проявилось в достоверном снижении САД и ДАД. Вероятно, что уменьшение периферического сопротивления емкостных сосудов Мц и, соответственно, увеличение притока крови в ткани позволило снизить системное АД. В тоже время, снижение АД могло произойти вследствие уменьшения активности симпатического (в пользу чего свидетельствует увеличение Ан) и/или увеличения парасимпатического компонента вегетативной нервной системы (ВНС). О влиянии ГДК на ВНС свидетельствует и уменьшение ЧСС, которая связана с активностью симпатического и парасимпатического отделов и является результатом многоконтурной и многоуровневой реакции системы регуляции кровообращения [26]. Известно, [27], что ЧСС играет основную роль в системе барорефлекторной стабилизации АД, причем является не гомеостатической переменной, а регулирующим воздействием, величина которой изменяется в широких пределах при действии различных факторов. Изменение ЧД может являться и результатом изменения АД, поскольку в дыхательном центре продолговатого мозга выявляются нейроны, активность которых прямо пропорционально связана с изменением АД [28].

При повышении дозы ГДК до 100-200 мг/кг реакция КРС животных меняется на противоположную: происходит достоверное повышение САД, ДАД, ЧСС и ЧД на фоне тенденции к снижению показателей Мц относительно значений данных показателей в контроле. Вероятно, что высокие концентрации ГДК приводят к активации симпатической нервной системы и централизации кровообращения, которой сопутствует повышение АД, ЧСС и ЧД. Подобные изменения КРС сопровождают практически все срочные реакции организма на действие экстремальных эндо- и экзогенных факторов.

По нашему мнению, изменения гемодинамических и респираторных показателей при введении животным ГДК могут рассматриваться не как самостоятельные феномены, а во взаимосвязи между собой, поскольку ГДК, влияя на ВНС, изменяет параметры КРС, сохраняя при этом их физиологические взаимоотношения.

Таким образом, в настоящем исследовании установлено, что ГДК влияет на функциональные показатели КРС – жизненно важной системы организма, что выражается в изменении ЧСС, ЧД, САД, ДАД и показателей Мц. При этом выраженность и направленность изменений данных показателей зависела от дозы вводимого вещества. Наиболее эффективными по влиянию на показатели КРС оказались дозы ГДК 5 и 50 мг/кг.

Необходимо отметить, что в исследованиях острой токсичности тестируемого вещества на животных после его однократного введения были экспериментально определены летальные концентрации для этого соединения и построена кривая токсичности (рис. 3): LD20, при которой наблюдалась первая смертность животных, составила 200 мг/кг; LD50 – 250 мг/кг, а абсолютная летальная доза LD100 – 400 мг/кг, что позволяет отнести ГДК к 3 классу опасности – умеренно токсичным веществам.

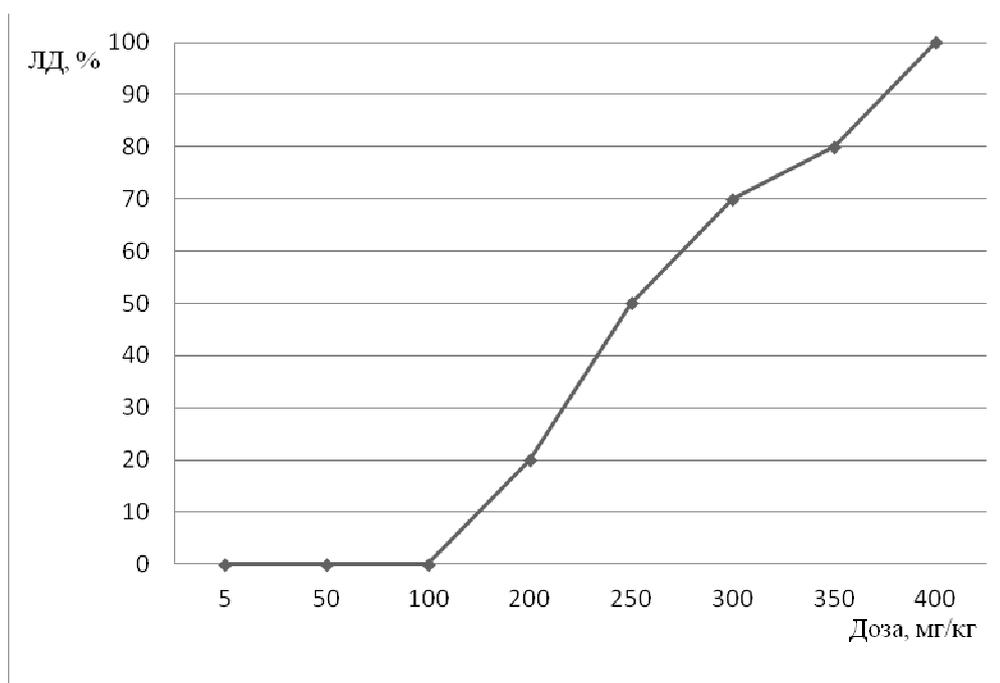


Рис.3. Кривая «доза-эффект» острой токсичности 1-гидрокси-1,1-этилиден дифосфоновой кислоты (ГДК). Примечание: ЛД – летальная доза.

Согласно современным представлениям об оценке фармакологической безопасности лекарственных средств в доклинических исследованиях [30], дозы,

которые являются фармакологически безопасными для ГДК составляют 5 и 50 мг/кг. Именно в этих дозах целесообразно проводить дальнейшие исследования с использованием моделей гипертензии и других заболеваний КРС. Таким образом, можно заключить, что ГДК может быть рекомендована как компонент для синтеза новых производных, проявляющих выраженное гипотензивное и кардиотропное действие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота влияет на функциональные показатели кардиореспираторной системы лабораторных животных, что выражается в изменении частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, систолического и диастолического артериального давления, показателей микроциркуляции.
2. Зарегистрированы дозозависимые изменения показателей кардиореспираторной системы у животных при введении 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты, которые проявлялись в разнонаправленном изменении показателей тканевой микрогемодинамики и показателей частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, систолического и диастолического артериального давления.
3. 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислота в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает гипотензивное, отрицательное хронотропное влияние, уменьшает частоту дыхания, улучшает процессы тканевой микрогемодинамики, что выражается в увеличении эндотелий-зависимой вазодилатации, снижении периферического сопротивления, увеличении притока крови в нутритивное микрососудистое русло, улучшении веноулярного оттока.
4. 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислота в дозах 100–200 мг/кг оказывают гипертензивное, положительное хронотропное влияние, повышает частоту дыхания на фоне тенденции к снижению показателей микроциркуляции относительно значений данных показателей в контроле.
5. Половые различия в реакции кардиореспираторной системы на введение 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты не выявлены за исключением частоты сердечных сокращений и артериального давления при введении вещества в дозах 100-200 мг, при которых у самок зарегистрированы более высокие значения этих показателей по сравнению с таковыми у самцов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 18-13-00024 «Координационные соединения дифосфонатов металлов со спейсерированными 1,2,4-триазолами как основа новых гибридных материалов и лекарственных препаратов» на экспериментальном оборудовании центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (структурное подразделение) ФГАОУВО «Крымский федеральный университет им В.И. Вернадского».

Список литературы

1. Drake M. T. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice / M. T. Drake, B. L. Clarke, S. Khosla // Mayo. Clin. Proc. – 2008. – Vol. 83, No 9. – P. 1032–1045.
2. Reszka A. A. Mechanism of Action of Bisphosphonates / A. A. Reszka, G. A. Rodan // Curr. Osteoporos. Rep. – 2003. – Vol. 3, No 2. – P. 45–52.
3. Дедов И. И. Роль и место бисфосфонатов в профилактике и лечении остеопороза 10-летний опыт применения алендроната (фосамакса) / И. И. Дедов, Л. Я. Рожинская, Ж. Е. Белая // Остеопороз и остеопатии. – 2005. – № 1. – С. 20–30.
4. Russell R. Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates / R. Russell // Bone. – 2007. – Vol. 40, No 5. – P. 21–25.
5. Высоцкая И. В. Рекомендации по применению бисфосфонатов при лечении больных раком молочной железы и изучение состояния костной ткани у больных: по материалам Американского общества клинической онкологии (ASCO). Часть I. Рекомендации по применению бисфосфонатов в лечении рака молочной железы / И. В. Высоцкая // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 14–22.
6. Высоцкая И. В. Рекомендации по применению бисфосфонатов при лечении больных раком молочной железы и изучение состояния костной ткани у больных: по материалам Американского общества клинической онкологии (ASCO). Часть II. Бисфосфонаты в адьювантном лечении рака молочной железы / И. В. Высоцкая // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3. – С. 36–40.
7. Петриев В. М. Остеотропные радиофармпрепараты на основе фосфоновых кислот для лечения костных метастазов человека (обзор) / В. М. Петриев, Е. Л. Афанасьева, В. Г. Скворцов // Хим.-фарм. журн. – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 1–10.
8. Дроздов В. Эффективность и безопасность лечения остеопении и остеопороза бисфосфонатами / В. Дроздов, Ю. Эмбутникс // Врач. – 2010. – № 5. – С. 67–71.
9. Ковальчук П. А. Бисфосфонаты и их роль в лечении опухолевых поражений костей (обзор литературы) / П. А. Ковальчук, А. Г. Дедков, С. И. Бойчук, И. Б. Волков // Клиническая онкология. – 2012. – № 7 (3). – С. 1–4.
10. Черетаев И. В. АТФ-зависимые и кальциевые механизмы влияния салицилатов на электрические потенциалы нейронов моллюска *Helix albescens* / И. В. Черетаев, И. И. Кореньюк, Д. Р. Хусаинов [и др.]. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2015. – Т. 101, № 3. – С. 326–336.
11. Cheretaev I. V. ATP-Dependent and Calcium Mechanisms of the Effects of Salicylates on Electrical Potentials in Neurons in the Mollusk *Helix Albescens* / I. V. Cheretaev, I. I. Korenyuk, D. R. Khusainov [et al.]. // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2016. – Vol. 46, No. 6. – P. 644–651.
12. Cattalini J. P. Bisphosphonate-Based Strategies for Bone / J. P. Cattalini, M. Pharm, A. R. Voccaccini // Tissue engineering: Part B. – 2012. – V. 18, No 5. – P. 324–326.
13. Мостовой С. О. Коррекция с помощью хелатообразующих веществ остеосклеротических изменений в нижнечелюстной кости крыс, вызванных приёмом бисфосфонатов / С. О. Мостовой, В. Ф. Шульгин, В. М. Пешков // Цитология. – 2018. – Т. 60, № 6. – С. 476–481.
14. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis / J. Frith, J. Monkkonen, S. Auriola [et al.]. // Arthritis Rheum. – 2001. – Vol. 44, No 9. – P. 2201–2210.
15. Berridge M. G. Neuronal calcium signaling / M. G. Berridge // Neuron. – 1998. – Vol. 21, No 1. – P. 13–18.
16. Беспрозванный И. Б. Система кальциевой сигнализации при нейродегенерации / И. Б. Беспрозванный // Acta Naturae. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 80–88.
17. Князькова И. И. Клиническая фармакология бисфосфонатов / И. И. Князькова // Ліки України. – 2014. – № 5–6. – С. 84–89.
18. Чуян Е. Н. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. / Е. Н. Чуян, Н. А. Темурыянец, О. Б. Московчук: монография. – Симферополь: ЧП «Эльиньо», 2003. – 448 с.

19. Козлов В. И. Лазерная доплеровская флоуметрия и анализ коллективных процессов в системе микроциркуляции / В. И. Козлов, Л. В. Корси, В. Г. Соколов // Физиология человека. – 1998. – Т. 24, №6. – 112 с.
20. Козлов В. И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии / Козлов В. И., Мач Э. С., Литвин Ф. Б., Терман О. А., Сидоров В. В. // Пособие для врачей. – 2001. – 22 с.
21. Крупаткин А. И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: руководство для врачей. / А. И. Крупаткин, В. В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.
22. Маколкин В. И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в кардиологии / В. И. Маколкин, В. В. Бранько, С. А. Богданова. // Пособие для врачей. – М.: Россельхозакадемия. – 1999. – 48 с.
23. Hoffman U. The frequency histogram – A new method for the evaluation of Laser Doppler Flux Motion. / Hoffman U., Yanar A., Bolinger A. // Microvascul. Res. – 1990. – P. 293–301.
24. Berridge, M. G. The Inositol Trisphosphate/Calcium Signaling Pathway in Health and Disease / M. G. Berridge // Physiol. Rev. – 2016. – Vol. 96, No 4. – P. 1261–1296.
25. Burnstock, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission / G. Burnstock // Physiol. Rev. – 2007. – Vol. 87, No 2. – P. 659–797.
26. Иванов Г. Г. Минутные, циркадные и сезонные колебания микроальтернатив ЭКГ-сигнала по данным дисперсионного картирования / Г. Г. Иванов, Р. М. Баевский, Г. Гази [и др.] // Клин. информат. и Телемед. – 2013. – Т. 9, вып. 6. – С. 25–32.
27. Спицина Т. А. Вариабельность сердечного ритма у лиц молодого возраста с артериальной гипертензией в зависимости от исходного вегетативного тонуса / А. П. Спицин, Т. А. Спицина // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 2–1. – С. 56–61.
28. Герасимов И. Г. Взаимосвязь между показателями гемодинамики и дыхания у человека / И. Г. Герасимов, Е. В. Самохина // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, № 4. – С. 72–75.
29. Панкова Н. Б. Анализ вариабельности сердечного ритма и артериального давления при разных функциональных пробах у женщин и мужчин / Н. Б. Панкова, С. А. Надоров, М. Ю. Карганов // Физиология человека. – 2008. – Т. 34, № 4. – С. 64–72.
30. Енгальчева Г. Н. Оценка фармакологической безопасности лекарственных средств в доклинических исследованиях / Г. Н. Енгальчева, Р. Д. Сябаев, А. Н. Васильев [и др.] // Вестник научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2013. – № 1. – С. 10–13.

THE INDICATORS OF THE CARDIORESPIRATORY SYSTEM OF RATS UNDER THE ACTION OF 1-HYDROXYETHANE-1,1-DIPHOSPHONIC ACID

Chuyan E. N., Ravaeva M. Yu., Pridatko A. I., Cheretaev I. V., Shulgin V. F.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: ravaevam@yandex.ru*

The study of changes of indicators of cardiorespiratory system in rats under the action of diphosphane, or 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid. Dose-dependent changes in the parameters of the cardiorespiratory system in animals with the introduction of diphosphane were registered, which manifested themselves in a multidirectional change in the parameters of tissue microhemodynamics and heart rate, respiratory rate, blood pressure. Diphosphane in doses of 5 and 50 mg / kg has a hypotensive, negative chronotropic effect, reduces respiration rate, improves the processes of tissue microhemodynamics, and in doses of 100–200 mg/kg have a hypertensive, positive chronotropic effect, increases respiration rate against the background of a tendency to decrease in microcirculation relative to the values of these indicators in the control.

1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid affects the functional parameters of the cardiorespiratory system of laboratory animals, which is expressed in changes in heart rate, respiratory rate, systolic and diastolic blood pressure, microcirculation. Dose-dependent changes in cattle indices in animals with the introduction of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid were recorded, which manifested themselves in a multidirectional change in tissue microhemodynamics and heart rate, respiratory rate, systolic and diastolic blood pressure. 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid in doses of 5 and 50 mg / kg has a hypotensive, negative chronotropic effect, reduces respiration rate, improves tissue microhemodynamic processes, which is expressed in increasing endothelium-dependent vasodilation, reducing peripheral resistance, increasing blood flow into the nutritive microvascular bed, improving venular outflow. 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid in doses of 100-200 mg / kg have a hypertensive, positive chronotropic effect, increases respiration rate against the background of a tendency to decrease in microcirculation parameters relative to the values of these parameters in the control. Sexual differences in the reaction of the cardiorespiratory system to the introduction of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid were not revealed except for the heart rate and blood pressure when administered at doses of 100-200 mg, in which males recorded higher values of these indicators compared to those in females.

Keywords: bioscreening, 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid, cardiorespiratory system, heart rate, respiration rate, blood pressure, microcirculation indices, lethal dose.

References

1. Drake, M. T. Clarke B. L., Khosla S., Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice, Mayo. *Clin. Proc.*, **83**, **9**, 1032 (2008).
2. Reszka A. A., Rodan G. A. Mechanism of Action of Bisphosphonates, *Curr. Osteoporos. Rep.*, **3**, **2**, 45 (2003).
3. Dedov I. I., Rozhinskaya L. Ya., Belaya Zh. E., Rol' i mesto bisfosfonatov v profilaktike i lechenii osteoporoza 10-letnij opyt primeneniya alendronata (fosamaksa), *Osteoporoz i osteopatii*, **1**, 20 (2005).
4. Russell R., Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates, *Bone*, **40**, **5**, 21 (2007).
5. Vysockaya I. V., Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov pri lechenii bol'nyh rakom molochnoj zhelezy i izuchenie sostoyaniya kostnoj tkani u bol'nyh: po materialam Amerikanskogo obshchestva klinicheskoy onkologii (ASCO). Chast' I. Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov v lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy*, **2**, 14 (2008).
6. Vysockaya I. V., Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov pri lechenii bol'nyh rakom molochnoj zhelezy i izuchenie sostoyaniya kostnoj tkani u bol'nyh: po materialam Amerikanskogo obshchestva klinicheskoy onkologii (ASCO). Chast' II. Bisfosfonaty v ad"yuvantnom lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy*, **3**, 36 (2008).
7. Petriev V. M., Afanas'eva E. L., Skvorcov V. G., Osteotropnye radiofarmpreparaty na osnove fosfonovyh kislot dlya lecheniya kostnyh metastazov cheloveka (obzor), *Him.-farm. zhurn.*, **42**, **5**, 1 (2008).
8. Drozdov V., Ehmbutnieks YU., Effektivnost' i bezopasnost' lecheniya osteopenii i osteoporoza bifosfonatami, *Vrach*, **5**, 67 (2010).
9. Koval'chuk P.A., Dedkov A. G., Bojchuk S. I., Volkov I. B., Bifosfonaty i ih rol' v lechenii opuholevyh porazhenij kostej (obzor literatury), *Klinicheskaya onkologiya*, **7**, **3**, 1 (2012).
10. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Khusainov D. R., Gamma T. V., Kolotilova O. I., Nozdrachev A. D., ATP-Dependent and Calcium Mechanisms of the Effects of Salicylates on Electrical Potentials in Neurons in the Mollusk *Helix Albescens*, *Neuroscience and Behavioral Physiology*, **46**, **6**, 644 (2016).

11. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Khusainov D. R. [et al.]. ATP-Dependent and Calcium Mechanisms of the Effects of Salicylates on Electrical Potentials in Neurons in the Mollusk *Helix Albescens*, *Neuroscience and Behavioral Physiology*, **46**, **6**, 644 (2016).
12. Cattalini J. P., Pharm M., Boccaccini A. R., Bisphosphonate-Based Strategies for Bone, *Tissue engineering: Part B*, **18**, **5**, 324 (2012).
13. Mostovoj S. O., Shul'gin V. F., Peshkov V. M., Korrekciya s pomoshch'yu helatoobrazuyushchih veshchestv osteoskleroticheskikh izmenenij v nizhnechelyustnoj kosti krys, vyzvannyh priyomom bisfosfonatov, *Citologiya*, **60**, **6**, 476 (2018).
14. Frith J., Monkkonen J., Auriola S., Mönkkönen H., Rogers M., The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis, *Arthritis Rheum.*, **44**, **9**, 2201 (2001).
15. Berridge M. G., Neuronal calcium signaling, *Neuron*, **21**, **1**, 13 (1998).
16. Besprozvannyj I. B., Sistema kal'cievoj signalizacii pri nejrodegeneracii, *Acta Naturae*, **2**, **1**, 80 (2010).
17. Knyazkova I. I. Clinical pharmacology of bisphosphonates, *Liki Ukrainy*, **5–6**, 84 (2014).
18. Chuyan E. N., Temur'yants N. A., Moskovchuk O. B. *Fiziologicheskiye mekhanizmy biologicheskikh effektov nizkointensivnogo EMI KVCH*, monografiya, 448 p. (CHP «El'in'o»Simferop ol', 2003).
19. Kozlov V. I., Korsi L. V., Sokolov V. G. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya i analiz kollektivnykh protsessov v sisteme mikrotsirkulyatsii, *Fiziologiya cheloveka*, **24**, **(6)**, 112 (1998).
20. Kozlov V. I., Mach E. S., Litvin F. B., Terman O. A., Sidorov V. V *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii Posobiye dlya vrachey*, 22 (2001).
21. Krupatkin A. I., Sidorov V. V. *Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrotsirkulyatsii krovi: rukovodstvo dlya vrachey*, 254 p. (M., Meditsina, 2005).
22. Makolkin V. I., Bran'ko V. V., Bogdanova È. A. *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii v kardiologii, Posobiye dlya vrachey*, 48 p. (M., Rossel'khozakademiya, 1999).
23. Hoffman U., Yanar A., Bolinger A. The frequency histogram – A new method for the evaluation of Laser Doppler Flux Motion, *Microvascul. Res.*, 293 (1990).
24. Stefanovska A., Bracic M. Physics of the human cardiovascular system, *Contemporary Physics.*, **40** **(1)**, 31 (1999).
25. Krupatkin A. I. Pul'sovyye i dykhatel'nyye ostillyatsii krovotoka v mikrotsirkulyatornom rusle kozhi, *Fiziologiya cheloveka*, **34****(3)**, 70 (2008).
26. Ivanov G., Baevsky R., Ghazi G., Minute, circadian and seasonal fluctuations of microalternations of an electrocardiogram-signal according to dispersive mapping, *Rev. Lett.*, **9**, 25 (2013).
27. Spitsin A., Spitsina T., heart rate Variability in young people with hypertension depending on the initial vegetative tone, *Siberian medical journal*, **26** **(2)**, 56 (2011)
28. Gerasimov I., Samokhina E., the Relationship between hemodynamics and respiration in humans, *Fiziologiya cheloveka*, **29** **(4)**, 72 (2003).
29. Pankova N., Analysis of heart rate variability and blood pressure during different functional tests in women and men, *Fiziologiya cheloveka*, **34** **(4)**, 64 (2008).
30. Engalycheva G., Evaluation of pharmacological safety of drugs in preclinical studies, *Bulletin of the scientific center of expertise of medical applications*, **1**, 10 (2013).