

КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАНИЙ РЕЗВЕРАТРОЛА С ОСНОВНЫМИ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

**В.И. КОЧКАРОВ
Л.М. ДАНИЛЕНКО
О.А. КУЗЬМИЧЕВА**

*Белгородский
государственный
университет*

e-mail: kochkarov@bsu.edu.ru

У лабораторных животных при моделировании дефицита оксида азота введением ингибитора NO-синтазы L-NAME изучались миокардиальные нагрузочные пробы (адренореактивность, нагрузка сопротивлением), содержание нитрит ионов сыворотки крови, экспрессия эндотелиальной NO синтазы. Выявлена активизация кардиопротективных эффектов эналаприла, лозартана, амлодипина, индапамида и небиволола при сочетанном их введении с резвератролом.

Ключевые слова: L-NAME, резвератрол, эналаприл, лозартан, индапамид, амлодипин, небиволол.

Весьма актуальной задачей современной кардиофармакологии является изыскание кардиопротективных средств. В этой связи очевидную фармакотерапевтическую перспективность представляет вещество резвератрол (3, 5, 4'-тригидрокси-трансстильбен). Именно данному веществу отводится роль ключевого звена «Французского парадокса». Как показали результаты эпидемиологического исследования уровень сердечно-сосудистых заболеваний населения Франции ниже, чем в других развитых странах, и этот «парадокс» обусловлен регулярным употреблением населения Франции красного вина, содержащего резвератрол. Также, многочисленные экспериментальные исследования выявили у резвератрола гиполипидемическую, антиоксидантную, эстрогенную, антиагрегационную активности, и кардиопротективные и эндотелиотропные эффекты в опытах *in vitro*. [5, 6, 7].

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования явилось изучение кардиопротективных свойств резвератрола в сочетании с основными антигипертензивными препаратами условиях дисфункции эндотелия вызванной блокадой фермента eNOS.

Опыты выполнены на самцах белых нелинейных крыс массой 200-300 г. Ингибитор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME, Sigma) вводился внутривентриально один раз в сутки в дозе 25 мг/кг в объеме 1 мл/кг в течение 7 дней. (n=10 животных). Животным интактной группы вводился физиологический раствор NaCl в том же объеме (n=10 животных) [4].

Резвератрол производства Greensyn™ (Guangzhou), Ltd КНР вводили внутривентриально в дозе 2 мг/кг/сут., которая была определена нами, учитывая максимальное содержание его в экстраординарных сортах вин (10 мкмоль/л, 600 мл/сут.). Согласно литературных данных именно в этой дозе резвератрол, проявляет максимальные эндотелио- и кардиотропные эффекты [5, 6, 7]. (n=10 животных). Антигипертензивные препараты вводились внутривентриально в дозах: эналаприл (0,5 мг/кг), лозартан (6 мг/кг), амлодипин (0,5 мг/кг), индапамид (2 мг/кг); небиволол (0,5 мг/кг) в сутки соответственно. (n=10 в каждой группе животных). При сочетанном применении резвератрола с антигипертензивными препаратами использовались те же дозы и пути введения (n=10 в каждой группе животных).

Исследование показателей гемодинамики в группах животных проводили под наркозом (этамбул натрия 50 мг/кг) посредством введения в сонную артерию катетера регистрировали систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС с помощью датчика P23ID "Gould" США, АЦП L-154 и компьютерной программы "Bioshell).

Исследование сократимости миокарда после моделирования патологии проводили у наркотизированных крыс, находящихся на управляемом дыхании посредством зондирования левого желудочка и регистрацией на аппаратно-программном комплексе «Bioshell». Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных проводили нагрузочные пробы на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, из расчёта 0,1 мл на 100 г), и нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 сек) [3].



В качестве биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции нами определялись уровень eNOS в аорте крыс, и уровень суммарного нитрита в сыворотке крови крыс [1, 2]. При статистической обработке данных рассчитывали среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Моделирование патологии блокадой NO-синтазы, аналогом L-аргинина – L-NAME, приводила к артериальной гипертензии (АГ) (САД – $190,3 \pm 6,7$, ДАД – $145,0 \pm 3,9$ мм рт. ст.). Коррекция данной АГ монотерапией вышеуказанными препаратами, в том числе и резвератролом в разной степени снижала АД, но не в одном случае не приводила его уровень к целевым значениям. Вместе с тем результаты комбинированной терапии резвератрола с данными препаратами обнаружила положительное фармакодинамическое взаимодействие. При чем, использование сочетаний резвератрола с лозартаном и резвератрола с амлодипином приводило значения АД к целевому уровню. Значения соответственно составили САД – $144,1 \pm 4,9$, ДАД – $117,2 \pm 3,4$ и САД – $166,2 \pm 7,3$, ДАД – $138,8 \pm 5,6$.

В дальнейшем согласно протокола исследований нами было проведено изучение функционального состояния миокарда с помощью нагрузочных проб.

Проба на адренореактивность у животных с L-NAME-индуцированным дефицитом оксида азота на фоне применения монотерапии и комбинаций резвератрола с антигипертензивными препаратами обнаружила снижение максимальных цифр левожелудочкового давления. Однако сравнительный анализ показал, что достоверные значения наблюдаются при использовании комбинаций резвератрола с лозартаном и индапамидом по сравнению с монотерапией этими препаратами. У интактных животных – $199,2 \pm 8,3$, у животных с L-NAME-индуцированным дефицитом оксида азота – $247,3 \pm 4,8$, у резвератрола – $211,9 \pm 12,3$, лозартан – $242,7 \pm 4,7$, лозартан + резвератрол – $208,4 \pm 7,5$, индапамид – $254,8 \pm 7,3$, индапамид + резвератрол – $217,3 \pm 8,9$ мм рт.ст. (табл.).

Таблица

Влияние эналаприла, лозартана, амлодипина, индапамида и небиволола в комбинации с резвератролом на функциональные и биохимические показатели при моделировании дефицита оксида азота введением L-нитро-аргинин-метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутривенно
(в мм рт. ст., $M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	АДр	eNOS, в % от контроля	NO _x total, мкМоль
Интактные	$199,2 \pm 8,3$	$72,9 \pm 3,8$	$114,1 \pm 10,5$
L-NAME	$247,3 \pm 4,8^*$	$21,4 \pm 4,7^*$	$61,2 \pm 8,5^*$
L-NAME+резвератрол	$211,9 \pm 12,3^{**}$	$30,2 \pm 3,6^{**}$	$107,2 \pm 5,3^{**}$
L-NAME +эналаприл	$216,2 \pm 10,8^{**}$	$42,2 \pm 3,6^{**}$	$67,8 \pm 7,3$
L-NAME+эналаприл+резвератрол	$210,9 \pm 13,6^{**x}$	$39,1 \pm 3,3^{**}$	$97,6 \pm 7,5^{**x}$
L-NAME+лозартан	$242,7 \pm 4,7$	$43,3 \pm 3,8^{**}$	$68,9 \pm 5,5$
L-NAME+лозартан+резвератрол	$208,4 \pm 7,5^{**x}$	$37,3 \pm 3,5^{**x}$	$88,5 \pm 6,3^x$
L-NAME+амлодипин	$201,3 \pm 14,4^{**}$	$45,7 \pm 6,7^{**}$	$61,3 \pm 3,7^{**}$
L-NAME+амлодипин+резвератрол	$201,0 \pm 12,5^{**}$	$49,8 \pm 5,3^{**}$	$73,7 \pm 8,1^{**}$
L-NAME+индапамид	$254,8 \pm 7,3$	$30,5 \pm 3,2$	$57,3 \pm 2,7$
L-NAME+индапамид+резвератрол	$217,3 \pm 8,9^{**x}$	$35,7 \pm 3,6^{**}$	$65,9 \pm 4,7^{**}$
L-NAME +небиволол	$206,6 \pm 15,6^{**}$	$51,7 \pm 3,5^{**}$	$99,1 \pm 7,7^{**}$
L-NAME +небиволол +резвератрол	$215,4 \pm 14,2^{**}$	$50,7 \pm 3,2^{**}$	$112,8 \pm 5,5^{**}$

Примечание: 1) АДр данные пробы на адренореактивность представлены в абсолютных значениях; 2) eNOS – экспрессия эндотелиальной NO-синтазы; 3) NO_x total – концентрация нитрит-ионов в сыворотке крови; 4)* – при $p < 0,05$ в сравнении с интактной группой; 6) ** – при $p < 0,05$ в сравнении с группой – L-NAME-дефицита NO; x – $p < 0,05$ в сравнении с монотерапией.

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением сочетанное использование резвератрола оказалось предпочтительнее монотерапии. Значение ЛЖД к 25 секунде пе-

режата восходящей аорты в группе с моделированием L-NAME-индуцированного дефицита NO, составило $66,0\% \pm 2,3\%$ по отношению к 5-й секунде, тогда как у интактных животных $83,6 \pm 2,1\%$. Наилучшей эффективностью обладали сочетания резвератрола с эналаприлом ($89,1 \pm 4,3\%$) и лозартаном ($81,7 \pm 6,2\%$). Значения остальных групп животных занимали промежуточное положение между интактными и животными с патологией.

Результаты проведенных нагрузочных проб указывают на сохранение значительного миокардиального резерва у животных, леченных комбинацией резвератрола с антигипертензивными препаратами по сравнению с монотерапией.

Исследование биохимических маркеров в сериях экспериментальных животных, подтвердили увеличение кардиопротективной активности препаратов при сочетанном использовании с резвератролом.

Показатель экспрессии eNOS под воздействием указанных препаратов основных антигипертензивных групп достоверно увеличивался, в наибольшей степени у амлодипина и небиволола (таблица).

Концентрация нитрит-ионов (NO_x total) наиболее значимо увеличивалась в группе с резвератролом, комбинаций резвератрола с эналаприлом, лозартаном и небивололом, а в остальных группах прирост был ниже.

Выводы

1. Резвератрол в дозе 2 мг/кг проявляет выраженное кардиопротективное действие на модели L-NAME- индуцированного дефицита оксида азота.
2. Выявлено положительное фармакодинамическое взаимодействие при сочетанном применении резвератрола с эналаприлом, лозартаном, амлодипином, индапамидом и небивололом при данной модели патологии.

Литература

1. Марков, Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – Т. 45, №12. – С. 62-80.
2. Метельская В.А. Возможности лабораторной оценки NO-продуцирующей функции эндотелия / Клинич. и лаб. диагностика. – 2004. – №9. – С. 86.
3. Пичугин, В.В. Биохимические и функциональные аспекты экспериментальной терапии расстройств кровоснабжения и биоэнергетики миокарда в острой стадии регионарной ишемии сердца: Автореф. дис. д-ра мед. наук. / В.В.Пичугин. – М., 1979. – 25 с.
4. Покровский М.В. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте / М.В.Покровский, В.И. Кочкар, Т.Г.Покровская и др. // Кубанский научно-медицинский вестник. Краснодар. – 2006. – №10. – С.72-77.
5. Jager, U. Relaxant effect of trans-resveratrol on isolated porcine coronary arteries / U. Jager, H. Nguyen-Duong // *Arzneimittelforschung*. – 1999. – Vol. 49 – P. 207-211.
6. Leikert, J.F. Red Wine Polyphenols Enhance Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression and Subsequent Nitric Oxide Release From Endothelial Cells / J. F. Leikert, T. R. Rathel, P. Wohlfart // *Circulation*. – 2002 – Vol. 106, N13. – P. 1614 – 1617.
7. Naderali, E.K. Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs / E.K. Naderali, P.J. Doyle, G. Williams // *Clin. Sci*. – 2000 – Vol. 98 – P. 537-543.

CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF COMBINATIONS OF RESVERATROL WITH MAJOR ANTIHYPERTENSIVE DRUGS IN THE EXPERIMENTAL ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

V.I. KOCHKAROV
L.M. DANILENKO
O.A. KUZMICHEVA

Belgorod State University

e-mail: kochkarov@bsu.edu.ru

In laboratory animals in nitric oxide deficiency modelling introduction of NO-synthase inhibitor L-NAME functional and biochemical markers endothelial dysfunctions – factor endothelial dysfunctions, myocardial loading tests (adrenoreactivity, loading by resistance), the nitrite ions content in blood whey, expression endothelial NO-synthase investigated. Cardioprotective effects activation of enalapril, losartan, amlodipine, indapamide and nebivolol is revealed in their introduction in combination with resveratrol.

Keywords: L-NAME, resveratrol, enalapril, losartan, indapamid, amlodipin, nebivolol.

