

РЕЗВЕРАТРОЛ И ЕГО КОМБИНАЦИИ В ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

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

*Белгородский
государственный
университет*

e-mail: kochkarov@bsu.edu.ru

Проведено исследование эндотелиотропной активности резвератрола в виде монотерапии, а также при сочетанном применении с основными антигипертензивными препаратами – эналаприлом, лозартаном калия, индапамидом и амлодипином, при L-NAME – индуцированном дефиците оксида азота у крыс самцов линии Wistar. При этом выявлено, что резвератрол проявляет выраженные эндотелиопротективные свойства при данной модели экспериментальной патологии. Кроме того, резвератрол при сочетанном использовании с антигипертензивными препаратами усиливает их эндотелиотропные свойства.

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

Результаты экспериментальных и клинических исследований последних лет подтвердили концепцию причинно-следственной взаимосвязи между эндотелиальной дисфункцией и развитием сердечно-сосудистых заболеваний и патологических состояний (атеросклероза, артериальной гипертензии, легочной гипертензии, сердечной недостаточности, дилатационной кардиомиопатией, ожирением, гиперлипидемии, сахарным диабетом) [1, 3, 4].

Статистические данные, приведенные, в публикации в медицинском журнала «Lancet», указывали на тот факт, что во Франции, несмотря на предпочтительное употребление продуктов с высоким содержанием жиров, уровень сердечно-сосудистых заболеваний оставался ниже, чем в других развитых странах, и этот так называемый «Французский парадокс» обусловлен регулярным употреблением населения Франции красного вина.

В последствии при изучении состава красных сортов вин было обнаружено вещество – 3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен (резвератрол), которое вырабатывается в виноградных гроздьях в ответ на экстремальные факторы (низкие температуры, инфекции, УФ-воздействия). Дальнейшие исследование показали, гипополипидемическую, антиоксидантную эстрогенную и антиагрегационную активность данного вещества [5].

Наряду с выше перечисленными фармакологическими эффектами литературные данные свидетельствовали также, о кардиопротективной и эндотелиотропной активности резвератрола в опытах *in vitro*. Эндотелиотропная активность резвератрола обусловлена активацией фермента эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), которая приводит к увеличению выработки окиси азота, который являющегося основным вазодилатирующим фактором эндотелия сосудов [5].

В связи с выше изложенным представлялось актуальным изучить эндотелиопротективные свойства резвератрола при значительном блокировании фермента eNOS и дальнейшем развитии дефицита оксида азота в условиях эксперимента на животных.

Материал и методы исследований

Моделирование L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота осуществляли ежедневным внутрибрюшинным введением N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) в течение 7 дней крысам самцам линии Wistar массой 250-300 г. в дозе 25 мг/кг (1 группа, n=10). На фоне введения L-NAME животным осуществляли ежедневное внутрибрюшинное введение резвератрола в дозе 2 мг/кг – 2 группа (n=10), внутрижелудочное введение эналаприла малеата в дозе 0,5 мг/кг – 3 группа (n=10), внутрижелудочное введение лозартана калия 6 мг/кг – 4 группа (n=10), внутрижелудочное введение индапамида 2 мг/кг – 5 группа (n=10), внутрижелудочное введение



амлодипина 0,5 мг/кг– 6 группа (n=10), а также комбинаций резвератрола с данными препаратами тех же дозах в соответствующих группах (табл.).

Таблица

Влияние резвератрола и его комбинаций с эналаприлом, лозартаном, индапамидом, амлодипином, на показатели артериального давления и эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированном дефиците оксида азота

Группы животных	Функциональные пробы	Систолическое артериальное давление мм рт.ст.	Диастолическое артериальное давление мм рт.ст.	Интеграл сосудистой реакции усл.ед.	Коэффициент эндотелиальной дисфункции
Интактные	Исходные	137,7 ± 3,7**	101,9 ± 4,3**	1268,0 ± 74,8**	1,1 ± 0,1
	АХ	84,3 ± 4,5	38,7 ± 2,8		
	НП	83,0 ± 3,7	42,1 ± 4,4		
L-NAME (25мг/кг однократно в/б 7 суток)	Исходные	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*	695,3 ± 87,6*	5,4 ± 0,6*
	АХ	110,6 ± 5,2*	82,8 ± 6,6		
	НП	88,7 ± 4,7	50,8 ± 4,2		
Острая проба резвератрола (2мг/кг однократно в/б)	Исходные	134,1 ± 6,2**	104,2 ± 4,7**	1108,8 ± 77,5	1,2 ± 0,1**
	АХ	78,8 ± 4,0	38,6 ± 2,7		
	НП	86,2 ± 3,1	36,7 ± 3,4		
L-NAME + резвератрол (2мг/кг однократно в/б 7 суток)	Исходные	183,8 ± 15,0*	140,0 ± 8,3*	1663,4 ± 87,6	1,2 ± 0,1**
	АХ	55,2 ± 7,7	32,6 ± 3,3		
	НП	86,0 ± 7,9	49,0 ± 9,9		
L-NAME +эналаприл (0,5мг/кг внутривенно 7 суток)	Исходные	183,9 ± 11,4*	138,9 ± 7,0*	1405,5 ± 97,5	3,2 ± 0,1**
	АХ	98,0 ± 3,3	61,6 ± 4,7		
	НП	88,7 ± 4,0	42,7 ± 3,3		
L-NAME +эналаприл+ резвератрол	Исходные	175,9 ± 13,2*	132,6 ± 10,6*	1742,2 ± 165,2	1,5 ± 0,1**
	АХ	85,0 ± 7,5	53,0 ± 5,7		
	НП	84,8 ± 7,8	46,7 ± 3,0		
L-NAME +лозартан (6 мг/кг внутривенно 7 суток)	Исходные	192,2 ± 10,5*	138,2 ± 2,4*	1348,9 ± 79,8	2,5 ± 0,3**
	АХ	90,0 ± 7,8	51,7 ± 5,0		
	НП	95,5 ± 8,9	55,5 ± 5,5		
L-NAME +лозартан+ резвератрол	Исходные	144,1 ± 4,9**	117,2 ± 3,4**	1436,5 ± 161,4	1,8 ± 0,2**
	АХ	76,4 ± 3,8	40,2 ± 4,1		
	НП	76,0 ± 5,4	39,1 ± 2,8		
L-NAME +индапамид (2мг/кг внутривенно 7 суток)	Исходные	191,4 ± 10,0*	140,4 ± 2,4*	1442,7 ± 94,1	3,3 ± 0,4**
	АХ	94,9 ± 5,4	60,6 ± 4,5		
	НП	85,2 ± 3,3	43,8 ± 4,9		
L-NAME +индапамид+ резвератрол	Исходные	166,5 ± 7,5**	128,5 ± 7,5**	1781,1 ± 137,4	2,2 ± 0,1**
	АХ	90,9 ± 4,0	50,0 ± 3,0		
	НП	85,0 ± 2,9	49,9 ± 3,5		
L-NAME +амлодипин (0,5мг/кг внутривенно 7 суток)	Исходные	186,3 ± 15,2*	131,1 ± 7,0*	1350,4 ± 216,9	2,1 ± 0,3**
	АХ	93,1 ± 6,0	71,6 ± 9,0		
	НП	80,2 ± 7,7	44,1 ± 6,6		
L-NAME +амлодипин+ резвератрол	Исходные	166,2 ± 7,3**	138,8 ± 5,6**	1161,6 ± 113,5	1,6 ± 0,1**
	АХ	84,4 ± 3,0	53,8 ± 3,4		
	НП	88,1 ± 6,0	55,3 ± 5,5		
Группы животных	Функциональные пробы	Систолическое артериальное давление мм рт.ст.	Диастолическое артериальное давление мм рт.ст.	Интеграл сосудистой реакции усл.ед.	Коэффициент эндотелиальной дисфункции

Окончание табл.

1	2	3	4	5	6
Интактные	Исходные	137,7 ± 3,7**	101,9 ± 4,3**	1268,0 ± 74,8**	1,1 ± 0,1
	АХ	84,3 ± 4,5	38,7 ± 2,8		
	НП	83,0 ± 3,7	42,1 ± 4,4		
L-NAME (25мг/кг однократно в/б 7 суток)	Исходные	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*	695,3 ± 87,6*	5,4 ± 0,6*
	АХ	110,6 ± 5,2*	82,8 ± 6,6		
	НП	88,7 ± 4,7	50,8 ± 4,2		
Острая проба рез- вератрола (2мг/кг однократно в/б)	Исходные	134,1 ± 6,2**	104,2 ± 4,7**	1108,8 ± 77,5	1,2 ± 0,1**
	АХ	78,8 ± 4,0	38,6 ± 2,7		
	НП	86,2 ± 3,1	36,7 ± 3,4		
L-NAME + резве- ратрол (2мг/кг однократно в/б 7 суток)	Исходные	183,8 ± 15,0*	140,0 ± 8,3*	1663,4 ± 87,6	1,2 ± 0,1**
	АХ	55,2 ± 7,7	32,6 ± 3,3		
	НП	86,0 ± 7,9	49,0 ± 9,9		
L-NAME +энала- прил (0,5мг/кг внутрижелудочно 7 суток)	Исходные	183,9 ± 11,4*	138,9 ± 7,0*	1405,5 ± 97,5	3,2 ± 0,1**
	АХ	98,0 ± 3,3	61,6 ± 4,7		
	НП	88,7 ± 4,0	42,7 ± 3,3		
L-NAME +эналаприл+ рез- вератрол	Исходные	175,9 ± 13,2*	132,6 ± 10,6*	1742,2 ± 165,2	1,5 ± 0,1**
	АХ	85,0 ± 7,5	53,0 ± 5,7		
	НП	84,8 ± 7,8	46,7 ± 3,0		
L-NAME +лозарган (6 мг/кг внутри- желудочно 7 суток)	Исходные	192,2 ± 10,5*	138,2 ± 2,4*	1348,9 ± 79,8	2,5 ± 0,3**
	АХ	90,0 ± 7,8	51,7 ± 5,0		
	НП	95,5 ± 8,9	55,5 ± 5,5		
L-NAME +лозарган+резвер- атрол	Исходные	144,1 ± 4,9**	117,2 ± 3,4**	1436,5 ± 161,4	1,8 ± 0,2**
	АХ	76,4 ± 3,8	40,2 ± 4,1		
	НП	76,0 ± 5,4	39,1 ± 2,8		
L-NAME +индапамид (2мг/кг внутри- желудочно 7 суток)	Исходные	191,4 ± 10,0*	140,4 ± 2,4*	1442,7 ± 94,1	3,3 ± 0,4**
	АХ	94,9 ± 5,4	60,6 ± 4,5		
	НП	85,2 ± 3,3	43,8 ± 4,9		
L-NAME +индапамид+ рез- вератрол	Исходные	166,5 ± 7,5**	128,5 ± 7,5**	1781,1 ± 137,4	2,2 ± 0,1**
	АХ	90,9 ± 4,0	50,0 ± 3,0		
	НП	85,0 ± 2,9	49,9 ± 3,5		
L-NAME +амлодипин (0,5мг/кг внутри- желудочно 7 суток)	Исходные	186,3 ± 15,2*	131,1 ± 7,0*	1350,4 ± 216,9	2,1 ± 0,3**
	АХ	93,1 ± 6,0	71,6 ± 9,0		
	НП	80,2 ± 7,7	44,1 ± 6,6		
L-NAME +амлодипин+резв- ератрол	Исходные	166,2 ± 7,3**	138,8 ± 5,6**	1161,6 ± 113,5	1,6 ± 0,1**
	АХ	84,4 ± 3,0	53,8 ± 3,4		
	НП	88,1 ± 6,0	55,3 ± 5,5		

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с интактными; ** – $p < 0,05$ в сравнении с группой L-NAME

На 7 день от начала эксперимента под наркозом (этамилал натрия 50 мг/кг) вводили катетер в правую сонную артерию для регистрации показателей гемодинамики – систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС), которые измеряли непрерывно посредством датчика и компьютерной программы “Bioshell”. Исследовали соотношение выраженности эндотелийнезависимой (ЭНЗВ) и эндотелийзависимой (ЭЗВ) вазодилатации с внутривенным введением нитропруссид натрия (30 мкг/кг) и ацетилхолина (40 мкг/кг) соответственно с выведением коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) по методике, описанной нами ранее [2].



Для оценки эндотелийзависимых реакций (ЭЗР) нами исследована функциональная проба с введением дозы 40 мкг/кг ацетилхолина (АХ) и эндотелийнезависимая реакция (ЭНЗР) оценивались посредством фармакологической пробы с введением нитропрусида (НП) в дозе 30 мкг/кг [2].

Блокада NO-синтазы с помощью ежедневного, в течение 7-суток, внутривентрального введения L-NAME (N-нитро-L-аргинин метиловый эфир в дозе 25 мг/кг) приводила к достоверному снижению интеграла восстановления АД после введения АХ по сравнению с интактной группой животных (табл.). Напротив, ЭНЗР, являющаяся отражением реакции на введение НП увеличилась в 5 раз (см. табл.).

Для оценки степени эндотелиальной дисфункции мы рассчитывали «коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД)», являющегося отношением интеграла ЭНЗР восстановления АД в ответ на введение НП к интегралу ЭЗР восстановления АД в ответ на введение АХ.

Мы рассчитывали КЭД у каждого животного интактной группы и крыс после моделирования блокады NO-синтазы и получили достоверную разницу КЭД соответственно в 5 раз, соответственно 1,1 у интактных и 5,5 у животных, получавших L-NAME.

Таким образом, для дальнейшей оценки влияния фармакологических агентов на эндотелий сосудистого русла в качестве основного нами использован КЭД, как показатель фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

Острая проба с резвератролом в дозе 2 мг/кг внутривентрально не выявила достоверных изменений КЭД $1,1 \pm 0,1$ с группой интактных животных.

Однако, при введении резвератрола в дозе 2 мг/кг в сутки на фоне развития NO-дефицита показала, что КЭД у этой группы животных практически был равен таковому у группы интактных животных.

В дальнейшем нами были проведены исследования эндотелиопротективного действия эналаприла (0,5 мг/кг), лозартана (6 мг/кг), индапамида (2 мг/кг), амлодипина (0,5 мг/кг), при L-NAME-индуцированном дефиците оксида азота, а также их комбинаций с резвератролом (2 мг/кг). Данные показали, что резвератрол обладает значительной эндотелиопротективной активностью при развитии дефицита оксида азота, что выражалось в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции, как при использовании резвератрола в монотерапии, так и в комбинации с эналаприлом, лозартаном, индапамидом и амлодипином.

Необходимо отметить, что комбинированное использование резвератрола с эналаприлом, лозартаном, индапамидом и амлодипином позволяло в большей степени достигать снижения показателей артериального давления при L-NAME-индуцированном дефиците оксида азота, чем при использовании их при монотерапии, что говорит о значительном потенцировании эффектов препаратов резвератролом.

Таким образом, приведённые выше доказательства сопоставимых, а в некоторых случаях превышающих по степени эндотелиопротективных эффектов резвератрола при моделировании дефицита оксида азота в сравнении с другими группами препаратов, корригирующих эндотелиальную дисфункцию, позволяют рекомендовать его к применению в кардиологической практике. Кроме того, полученные данные доказывают концепцию патогенетически обоснованного подхода при коррекции дефицита оксида азота. В этом случае учитывается фармакологическое действие на различные точки приложения на системном и органном уровне. Результаты исследования позволяют сделать вывод об оправданном дополнительном назначении резвератрола к препаратам базисной фармакотерапии артериальной гипертензии.

Литература

1. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Функциональное состояние эндотелия при ишемии-реперфузии (обзор литературы) // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 2000. – №2. – С.148-163.
2. Покровский, М.В. Новый взгляд на коррекцию эндотелиальной дисфункции / М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская и соавт. // Российский журнал иммунологии. – 2006. – Т.9. – С. 60-61
3. Соболева Г.Н., Иванова О.В., Карпов Ю.А. Состояние эндотелия при артериальной гипертензии и других факторах риска атеросклероза (обзор литературы-2) // Тер. архив, —



1999.— № 7.— С. 80—83.

4. Basse R. anil l-laning I. Endothelial dysfunction in atherosclerosis // 1.Vase.Res. – 1996. – Vol. 33. – P. 181 – 194.

5. J. F. Leikert; T. R. Rathel; P. Wohlfart, V. Cheynier et all/ Red Wine Polyphenols Enhance Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression and Subsequent Nitric Oxide Release From Endothelial Cells Circulation, September 24, 2002; 106(13): 1614-1617.

RESVERATROL AND ITS COMBINATIONS IN ENDOTHELIOPROTECTION IN EXPERIMENTAL MEDELLING OF NITROGEN OXIDE DEFICIENCY

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

Belgorod State University

e-mail: kochkarov@bsu.edu.ru

Are carried out researches endothelioprotective action of resveratrol (3, 4', 5, -tri hydroxy-trance-stilbene) and its combinations with enalapril, lozartan, indapamid and amlodipin, at the L-NAME-induced deficiency nitrogen oxide. Data have shown, that resveratrol possesses appreciable endothelioprotective activity at development of deficiency nitrogen oxide that was expressed in depression of factor of endothelial dysfunction, both at use resveratrol in monotherapy, and in a combination with enalapril, lozartan, indapamid and amlodipin.

Key words: L-NAME, resveratrol, enalapril, lozartan, indapamid, amlodipin.