

Smokers Circulation 1999; 99: 491-97.

12. Deng, L.Y. Effect of hypertension induced by nitric oxide synthase inhibition on structure and function of resistance arteries in the rat / L.Y.Deng, G.Thibault, E.L.Schiffirin // Clin. Exp. Hypertens. -1993. -Vol.15. -P.527-537.

13. Heitzer T., Yla-Hertualla S., Luoma J. et al. Cigarette Smoking Potentiates Endothelial Dysfunction of Forearm Resistance Vessels in Patients With Hypercholesterolemia Role of Oxidized LDL. Circulation, 1996, 93: 1346-53.

14. Rector T.S., Bank A. J. Mullen K.A. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. Circulation 1996; 93:2135-41.

15. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension / J.B.Laursen, S.Rajagopalan, Z.Galis et al. // Circulation.- 1997.-Vol. 95.-P. 588-593

## **КАРДИО- И ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ СУБСТАНЦИИ БЕЗОПАСНОГО АНТИОКСИДАНТА $\pi$ Q510 ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА**

*Л.М. Даниленко, Э.А. Парфенов, Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров,  
Е.Г. Гуреева, М.П. Гладченко*

Курский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии

Терапия и профилактика заболеваний сердечно-сосудистой системы в развитых странах остается одной из самых актуальных проблем. Несмотря на большое количество лекарственных средств, применяемых кардиофармакологами и большой объем работ проводимых по поиску новых более эффективных препаратов, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний занимает первое место (6).

Чрезмерная активация свободнорадикальных процессов влечет за собой каскад негативных реакций патологических процессов, лежащих в основе ряда заболеваний. Одними из наиболее изученных на сегодняшний день свободнорадикальных патологий являются атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, в развитии которых большое значение приобретает неконтролируемая генерация пероксидов (13,14).

Основной группой препаратов, способной противостоять оксидативному стрессу, являются антиоксидантные средства, инактивирующие свободные радикалы и препятствующие их образованию, участвующие в восстановлении свободных радикалов, или препараты обладающие опосредованной антиоксидантной активностью (1,4).

Поэтому объектом нашего исследования явилось новое металлокомплексное соединение, безопасный антиоксидант  $\pi$ Q510 в состав которого входит титан и аскорбиновая кислота, именуемое ниже по тексту как АТ, синтезированное д.х.н. Э.А. Парфеновым (5).

И целью нашего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективного действия АТ в условиях экспериментального дефицита оксида азота.

### **Материалы и методы исследования**

Опыты проводились на белых крысах самцах линии Wistar массой 250-300 г. N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился внутривенно в дозе 25 мг/кг/сут. (3). На 7 день от начала эксперимента под наркозом (этамивал-натрия 50 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей, болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в правую бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли непрерывно посредством датчика и компьютерной программы "Bioshell". Функциональные пробы: внутривенное введение ацетилхолина (40мкг/кг) (12) и нитропруссид натрия (30 мкг/кг) (2).

Исследование сократимости миокарда проводили после перевода животного на управляемое дыхание. Полость левого желудочка зондировали иглой через верхушку сердца и регистрировали: левожелудочковое давление (ЛЖД), максимальную скорость сокращения (+dp/dt), максимальную скорость расслабления (-dp/dt), ЧСС. Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных проводили нагрузочные пробы: нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей дуги аорты на 30 секунд) (7,8,11), 3-х минутная гипоксия воспроизводилась посредством выключения аппарата искусственной вентиляции лёгких (9,10). При статистической обработке данных рассчитывали среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследований

**Эндотелийпротективные эффекты.** Для оценки эффективности эндотелийзависимых реакций (ЭЗР) и эндотелийнезависимых (ЭН) нами исследована функциональная проба с тестовыми вазодилататорами. ЭЗР с введением дозы 40 мкг/кг ацетилхолина (АХ). Болюсное внутривенное введение ацетилхолина в течение 3-5 сек. приводило к резкому падению артериального давления достигающего пика у интактных животных для систолического давления (САД)  $75,0 \pm 4,4$  мм рт.ст., для диастолического давления (ДАД) –  $38,5 \pm 2,7$  мм рт. ст. и для среднего артериального давления (СрАД)  $58,9 \pm 3,1$  мм рт. ст., при этом в течение первых 2-3 сек развивалась резкая брадикардия до 130-150 ударов в минуту. Восстановление АД происходило в среднем за  $41,3 \pm 0,8$  сек. после нормализации сердечного ритма.

Эндотелийнезависимая реакция (ЭНЗР) оценивались посредством фармакологической пробы с введением нитропрусида (НП) в дозе 30 мкг/кг и также характеризовалась снижением САД у интактной группы до  $80,3 \pm 7,9$ , ДАД до  $53,2 \pm 6,9$  и СрАД до  $61,3 \pm 2,9$  мм рт.ст. с последующим полным восстановлением в среднем в течение  $45,0 \pm 1,0$  сек. При проведении острой пробы на ЭНЗ реакция САД на НП составляла  $71,1 \pm 5,8$  мм рт.ст и ДАД  $31,8 \pm 2,4$  мм рт.ст., а введение ацетилхолина -соответственно САД  $50,0 \pm 3,9$  мм рт.ст. а ДАД  $23,6 \pm 1,2$  мм рт.ст.

Блокада NO-синтазы с помощью длительного, ежедневного, в течение 7-суток внутрибрюшинного введения L-NAME (N-нитро-L-аргинин метиловый эфир в дозе 25 мг/кг) приводила к меньшему снижению САД до  $97,3 \pm 3,1$  мм рт. ст., что достоверно отличалось от группы интактных животных. При этом ЭНЗР у L-NAME группы по сравнению с интактными достоверно не отличалась, составляя при этом  $84,3 \pm 5,9$  мм рт.ст.

Применение субстанции АТ на фоне экспериментального дефицита оксида азота демонстрирует как снижение исходных значений САД, ДАД соответственно до  $150,3 \pm 12,2$  и  $123,9 \pm 6,9$  мм рт. ст., так и вазорелаксирующих реакции сосудов при введении АХ и НП. Применение АТ на фоне дефицита оксида азота достоверно снижало значения САД и ДАД при ЭЗР до  $45,0 \pm 3,4$  и  $23,1 \pm 1,5$  мм рт. ст. соответственно, а при ЭНЗР САД и ДАД снижались до уровня  $75,4 \pm 4,7$  и  $40,2 \pm 3,2$  мм рт. ст. соответственно, о чём свидетельствуют диаграммы рисунков, представленных ниже.

Таким образом, полученные данные показывают преимущественную коррекцию субстанцией АТ ЭЗР по сравнению с ЭНЗР, что доказывает её эндотелийпротективное действие.

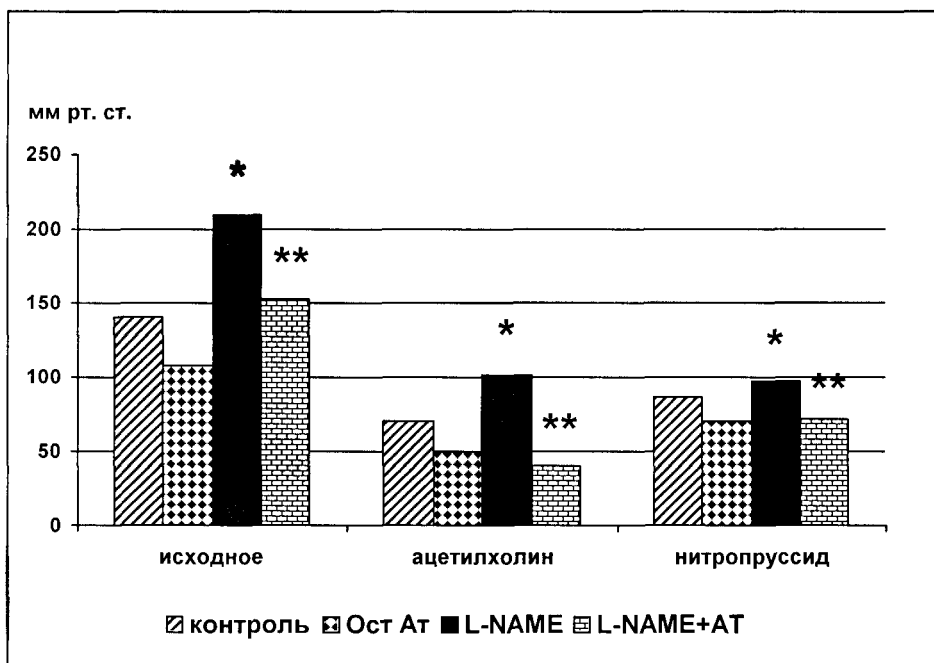


Рис. 1. Динамика САД при проведении ЭЗ и ЭЗЗ реакций с использованием субстанции АТ (30мг/кг) на фоне дефицита оксида азота.

\*- $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой, \*\*-  $p < 0,05$  по сравнению с группой L-NAME.

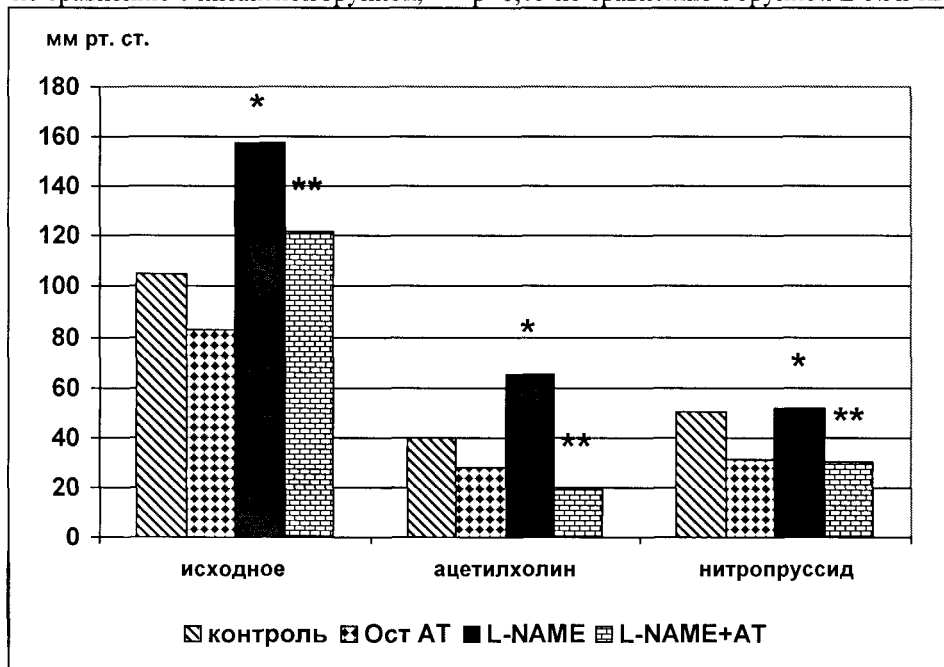


Рис. 2. Динамика ДАД при проведении ЭЗ и ЭЗЗ реакций с использованием субстанции АТ( 30мг/кг) на фоне дефицита оксида азота.

\*- $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой, \*\*-  $p < 0,05$  по сравнению с группой L-NAME.

**Кардиопротективные эффекты.** Одной из наиболее информативных функциональных проб, позволяющих вскрыть симптомы компенсированной сердечной недостаточности и метаболически реактивной сердечной недостаточности по типу кальциевой перегрузки миокардиоцитов в сочетании с дефектом диастолы являются феномен Анрепа (пережатие аорты) и гипоксическая проба (12).

При проведении пробы с пережатием аорты и оценки падения амплитуды левожелудочкового давления (ЛЖД) при его прямой катетеризации у интактных животных выявлено недостоверное падение ЛЖД на 25 сек пережатия по сравнению с 5 сек.

Напротив, блокада NO-синтазы с помощью длительного ежедневного в течение 7-суток внутрибрюшинного введения L-NAME в дозе 25 мг/кг приводило к снижению

ЛЖД на 25 сек пережатия аорты на 86%. АТ при острой фармакологической пробе достоверно не влиял на пробу с нагрузкой сопротивлением, в тоже время, при хроническом введении АТ в дозе 30 мг/кг на фоне блокады NO-синтазы предотвращал развитие скрытой сердечной недостаточности, что выражалось в предотвращении падения ЛЖД, которое составляло 93%, тогда как в группе, получавшей L-NAME - 87%.

В результатов гипоксической пробы у интактных животных прирост сократимости, выражающийся в увеличении ЛЖД на 120% в ответ на 3-х минутную гипоксию по сравнению с L-NAME ЛЖД снизился до 30%, показатели острой пробы и группы с АТ составили 180% и 160% соответственно. При моделировании L-NAME индуцированной гипертензии наблюдались нарушения ритма и экстрасистолы в 3 случаях из 10 приведшие к фатальным нарушениям ритма или не выходом животных из гипоксической брадикардии и гипотензии. АТ в дозе 30 мг/кг не только увеличивал амплитуду ЛЖД при реоксигенации, но и полностью предотвращал гибель животных в ответ на 3-х минутную гипоксическую пробу. Полученные результаты могут свидетельствовать об обнаруженном защитном эффекте и повышенной способности миокарда выдерживать длительные максимальные нагрузки.

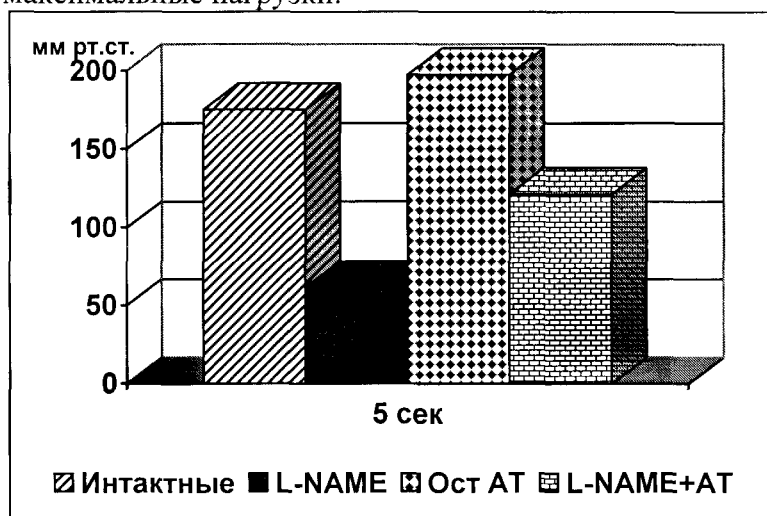


Рис 3 Данные ЛЖД при пережатии аорты на 5 секунде (%)

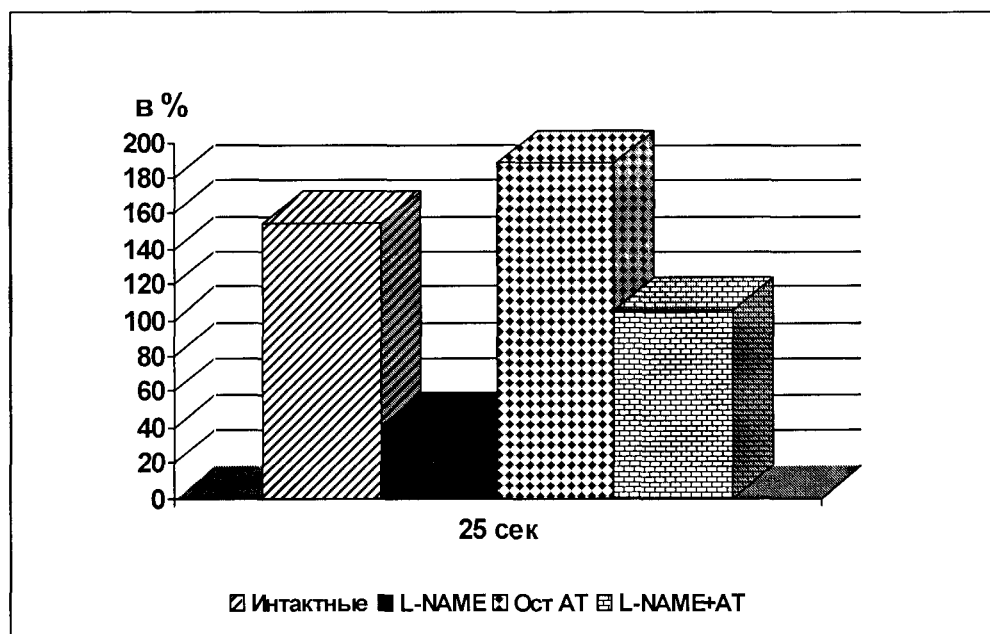


Рис 4 Данные ЛЖД при пережатии аорты на 25 секунде (%)

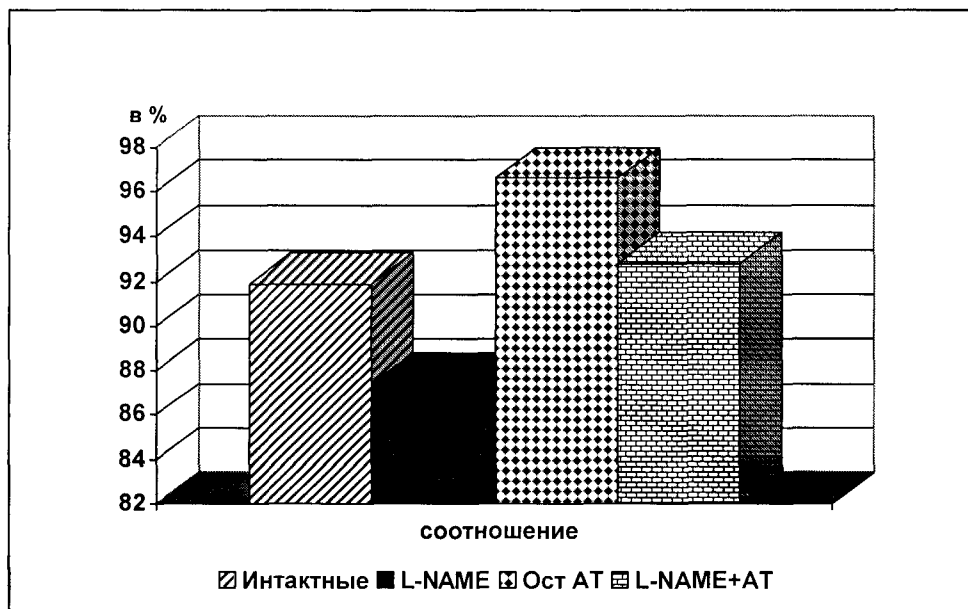


Рис. 5. Сравнительные данные ЛЖД при пережатии аорты на 5 и 25 секундах (%).

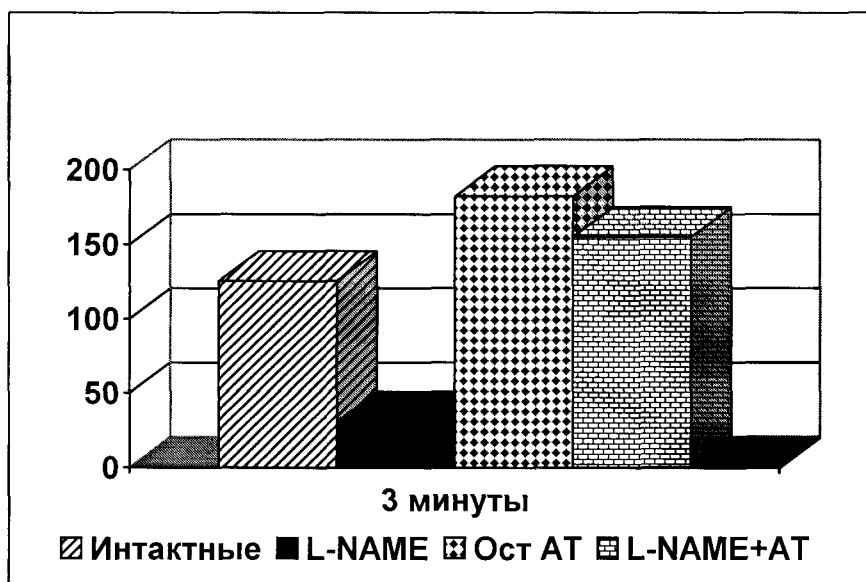


Рис. 6. Данные реоксигенации после 3- минутной гипоксии. Прирост в % перед реоксигенацией.

**Выводы:**

1. Металлокомплексное соединение титана с аскорбиновой кислотой  $\pi Q510$  при хроническом введении предотвращает развитие эндотелиальной дисфункции при введении L-NAME.

2. Металлокомплексное соединение титана с аскорбиновой кислотой  $\pi Q510$  обладает кардиопротективными свойствами при экспериментальной модели дефицита азота проявляющееся в улучшении показателей сократимости в ответ на нагрузку сопротивлением при пережатии аорты и реоксигенацию, и может послужить перспективой для дальнейшего поиска химических веществ с антиоксидантной активностью и возможно может служить основой для разработки в качестве потенциальных лекарственных средств для фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

**Литература**

1. А. Сцент-Дьёрдьи. Биоэнергетика. М. 1960. А. Сцент-Дьёрдьи. Биоэнергетика. М. 1960.

2. Галаган, М.Е. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников / М.Е. Галаган, А.В. Широколова, А.Ф. Ванин // *Вопр. мед. химии.*-1991.-Т.37, №1. –С. 67-70
3. Deng, L.Y. Effect of hypertension induced by nitric oxide synthase inhibition on structure and function of resistance arteries in the rat / L.Y. Deng, G. Thibault, E.L. Schiffrin // *Clin. Exp. Hypertens.* -1993. - Vol.15. - P.527-537.
4. E.A. Parfenov, G.E. Zaikov. Biometals and Ligands for Anticancer Drug Design: Superoxide Dismutase Models for Combined Tumor Therapy//Nova Science Publishers.-New York.- 2001.- PP.278.
5. E.A. Parfenov, G.E. Zaikov. Biotic Type Antioxidants: The Perspective Search Area of Novel Chemical Drugs//VSP.-Utrecht-Boston-Tokyo.-2000.-PP. 559.
6. Н.К.Зенков, В.З.Ланкин, Е.Б.Меньщикова. Окислительный стресс.-МАИК "Наука/Интерпериодика."- 2001.
7. Меерсон, Ф.З. Метаболизм и функция кардиомиоцита. Руководство по кардиологии / Ф.З. Меерсон.- М., 1982. -С.112-141.
8. Меерсон, Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон.- М.: Медицина, 1984. – 272 с.
9. Пашин, Е.Н. Кардиопротективное действие эноксипина на модели гипоксия-реоксигенация / Е.Н.Пашин // *Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины и фармации: Матер. конф.* - Курск, 1993 - С.171.
10. 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.
11. Применение дибунла для стимуляции репаративных процессов в сердечной мышце при инфаркте миокарда у крыс / В.В. Пичугин, Л.А. Конорев, В.Ю. Полумисков и др. // *Фармакология и токсикология.* - 1989. - Т.52, №6. - С. 52-56.
12. Role of superoxide in angiotensin II–induced but not catecholamine-induced hypertension / J.B. Laursen, S. Rajagopalan, Z. Galis et al. // *Circulation.*- 1997.-Vol. 95.- P. 588-593.
13. Э.А.Парфенов, Л.Д.Смирнов. Успехи и перспективы создания лекарственных препаратов на основе аскорбиновой кислоты. Обзор // *Хим.-фарм. журнал.*-1993.- Т. 26.- N9-10.- С. 4-17.
14. Э.А.Парфенов, Л.Д.Смирнов. Фармакологический потенциал антиоксидантов на основе кумарина. Обзор // *Хим.-фарм. ж-л.*-1988.- Т. 22.-С. 1438-1448.

## **ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ РЕЗВЕРАТРОЛА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА**

***В.И. Кочкаров, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, Л.М. Даниленко,  
М.П. Гладченко, Е.Б. Артюшкова***

Среди исследовательских работ последнего десятилетия особого внимания заслуживает вещество – 3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен (резвератрол), содержащееся в красных сортах виноградных вин, которое привлекло внимание ученых после публикации в медицинском журнале «Lancet», так называемого «Французского парадокса». Статистические данные, приведенные в публикации 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 «парадокс» обусловлен регулярным употреблением населения Франции красного вина.

В последствии при изучении состава красных сортов вин было обнаружено вещество – резвератрол, которое вырабатывается в виноградных гроздьях в ответ на экстремальные факторы (низкие температуры, инфекции, УФ-воздействия). Дальнейшие исследования показали, гиполипидемическую активность резвератрола за счет увеличения содержания в крови липопротеинов высокой плотности, и снижения содержания липопротеинов низкой плотности (9).

Резвератрол обладает антиоксидантной эстрогенной и антиагрегационной активностью (10), подавляет процессы ведущие к возникновению и прогрессированию онкологических заболеваний (13). Снижает риск возникновения нейродегенеративных заболе-