



ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ ЛОЗАРТАНА И ГИДРОХЛОРОТИАЗИДА В ОДНОЙ ТАБЛЕТКЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

**А.В. БАБНО¹, Е.Г. ТЕРЕХОВА¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ², Т.Г. ПОКРОВСКАЯ²
М.В. КОРОКИН¹, Н.В. АВДЕЕВА¹**

¹ *Курский государственный
медицинский университет*

² *Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: bavor@mail.ru

В лаборатории кардиофармакологии НИИ экологической медицины КГМУ проведено изучение эндотелио- и кардиопротективной активности лозартана, гидрохлоротиазида и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке в экспериментах на крысах. Полученные результаты позволили установить выраженную коррекцию эндотелиальной дисфункции при применении фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, L-NAME, фиксированная комбинация лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке.

Эндотелиальная дисфункция (ЭД), сопряженная с нарушением продукции оксида азота (NO), является одним из начальных нарушений метаболизма в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Дефицит сигнального пути, связанного с продукцией и транспортом NO, постепенно приводит к развитию артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца (ИБС) и сердечной недостаточности. Снижение эндотелий-зависимой вазодилатации, связанной с этим сигнальным путем, отмечается при прогрессировании атеросклероза [6].

ЭД – достаточно многогранный процесс, основные проявления которого следующие: нарушение биодоступности NO (подавление экспрессии/инактивация эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и снижение синтеза NO; уменьшение на поверхности эндотелиальных клеток плотности рецепторов (в частности, мускариновых), раздражение которых в норме приводит к образованию NO; повышение дегградации NO), повышение активности АПФ на поверхности эндотелиальных клеток, повышение выработки клетками эндотелия эндотелина-1 (ЕТ-1) и других вазоконстрикторных субстанций, нарушение целостности эндотелия при тяжелом его поражении и появление участков интимы, лишенных эндотелиальной выстилки (деэндотелизация) [5].

Хроническая гиперактивация ренин-ангиотензин альдостероновой системы (РААС) является важнейшим фактором, ведущим к формированию ЭД [10].

Активной формой этой системы является АТ II – октапептид, вызывающий генерализованную и очень сильную (в 50 раз сильнее адреналина) реакцию. В больших дозах АТ II способствует возникновению окислительного (оксидантного) стресса, так как, во-первых, угнетает инактивацию норадреналина легкими; во-вторых, увеличивает активность НАД- и НАДФ-зависимой оксидазы и превращает NO в супероксид азота – один из основных окислителей липопротеидов низкой плотности (ЛПНП); в-третьих, уменьшает синтез NO, разрушая брадикинин, сильный стимулятор образования NO; в-четвертых, стимулирует окисление ЛПНП макрофагами [9].

Благоприятное действие на ЭД антагонистов ангиотензиновых рецепторов реализуется, по-видимому, за счет блокады АТ 1-рецепторов, что приводит к снижению продукции супероксидных радикалов, уменьшению связывания NO и его накоплению. Так как стимуляция АТ 1-рецепторов способствует образованию супероксидов, инактивирующих NO, а стимуляция АТ 2-рецепторов приводит к вазодилатации и натрийурезу за счет активации системы брадикинина, NO и цГМФ, то эффект АТ II (усиление синтеза или инактивация NO) зависит от того, с какими рецепторами он преимущественно взаимодействует. Поэтому очевидно, что на фоне блокады АТ 1-рецепторов создаются условия для усиленного функционирования незаблокированных АТ 2-рецепторов, что приводит к накоплению NO [10].

Большое внимание в последнее время уделяется фиксированной комбинации блокатора рецепторов ангиотензина (БРА) лозартана и тиазидного диуретика

гидрохлоротиазида в одной таблетке, эффективность и безопасность которой доказана в исследованиях у пациентов с АГ различной степени. Однако работы по изучению влияния данного сочетания препаратов на ЭД немногочисленны.

В этой связи целью настоящего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективных эффектов фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке в условиях моделирования L-NAME- индуцированной ЭД.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 50 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250-300 г.

Моделирование дефицита NO осуществляли внутрибрюшинным введением L-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг крысам в течение 7 суток. Одновременно в течение 7 дней в группах животных проводили фармакологическую коррекцию дефицита NO введением лозартана в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке внутривенно, через 30 минут после внутрибрюшинного введения L-NAME.

На 8-й день эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) на первом этапе вводили катетер в левую сонную артерию и регистрировали систолическое и диастолическое 17героудальное давление (АД), частоту сердечных сокращений (ЧСС); на втором этапе вводили иглу в полость левого желудочка через верхушку сердца для регистрации частоты сердечных сокращений, левожелудочкового давления (ЛЖД), максимальной скорости сокращения (+dp/dt) и расслабления (-dp/dt). Измерения производились и обрабатывались посредством датчика P213ID («Gould», США), АЦП L-154 и компьютерной программы «Viorack».

Эндотелийзависимая (ЭЗР) и эндотелийнезависимая (ЭНЗР) сосудистые реакции оценивались посредством проведения функциональных сосудистых проб с внутривенным введением ацетилхолина (40 мкг/кг) и нитропруссид натрия (30 мкг/кг) [3]. Степень ЭД у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемым препаратом оценивали по расчетному коэффициенту ЭД (КЭД) [11].

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных, находящихся на управляемом дыхании, катетеризировали полость левого желудочка и проводили нагрузочные пробы в представленной последовательности: проба на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида 1,10⁻⁵ моль/л, из расчета 0,1 мл на 100 г), нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 с) [11]. После проведения данной пробы рассчитывался показатель исчерпания миокардиального резерва (выраженный в процентах), равный отношению прироста ЛЖД на 5-й секунде пережатия аорты к приросту ЛЖД на 25-й секунде пережатия аорты.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Результаты исследования. Ежедневное в течение 7 суток внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг привело к стойкому повышению АД до значений САД 190,3±6,7 мм рт.ст. и ДАД 145,0±3,9 мм рт.ст. по сравнению с группой интактных животных, где САД 137,7±3,7 мм рт.ст. и ДАД 101,9±4,3 мм рт.ст.

Введение лозартана в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг приводило к снижению артериального давления у крыс, и значения САД и ДАД составляли соответственно: САД 138,7±8,4 мм рт.ст., ДАД 106,0±6,5 мм рт.ст. и САД 161,0±4,0 мм рт.ст., ДАД 119,9±5,9 мм рт.ст. Введение фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке приводило к более выраженному снижению артериального давления: САД 124,6±4,0 мм рт.ст., ДАД 90,8±7,6 мм рт.ст.

Результаты проведения функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME-индуцированной патологией на фоне лечения исследуемыми препаратами позволили установить, что лозартан, гидрохлоротиазид, фиксированная комбинация



лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке достоверно снижали КЭД по сравнению с группой животных, не получавших лечения, причем КЭД в группе фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке был наиболее приближен к значению КЭД интактных животных (табл. 1).

При переводе животных на управляемое дыхание обнаружено, что исходные показатели сократимости левого желудочка у животных, получавших L-NAME, на фоне введения лозартана 8 мг/кг и гидрохлоротиазида 2 мг/кг, оказались достоверно меньше, чем в контрольной группе. Наиболее выраженное гиподинамическое действие оказывала фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке, значения ЛЖД которой не отличались от группы интактных животных (табл. 2).

Проба на адренореактивность характеризовалась выраженным приростом абсолютных значений ЛЖД. В группе животных, получавших L-NAME в дозе 25 мг/кг, максимальное повышение ЛЖД в ответ на внутривенное введение адреналина составило $247,3 \pm 4,8$ мм рт.ст. Максимальное ЛЖД при проведении пробы на адренореактивность в контрольной группе животных составило $199,2 \pm 8,3$ мм рт.ст. Лозартан в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазид в дозе 2 мг/кг и фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке предотвращали повышение адренореактивности, вызванное L-NAME-индуцированной патологией, и снижали максимальное ЛЖД в ответ на в/в введение адреналина соответственно до $209,6 \pm 4,0$ мм рт.ст., $216,9 \pm 6,8$ мм рт.ст., $190,4 \pm 6,8$ мм рт.ст. (табл. 3)

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением исследуемые препараты предотвращали истощение миокардиального резерва. Так, на 25-й секунде проведения пробы данный показатель в контрольной группе животных составил $83,6 \pm 4,6\%$. В группе животных, получавших L-NAME, – $66,0 \pm 4,3\%$. Тогда как результаты у животных, получавших лозартан в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазид в дозе 2 мг/кг и фиксированную комбинацию лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке, составили соответственно $79,2 \pm 5,0\%$, $77,7 \pm 3,5\%$, $80,2 \pm 3,9\%$ (табл. 3).

Таким образом, результаты исследования функционального состояния миокарда при проведении нагрузочных проб выявили отчетливое кардиопротективное действие фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида 2 мг/кг в одной таблетке, выражающееся в предотвращении увеличения адренореактивности и падения ЛЖД при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с животными, у которых моделировали L-NAME-индуцированный дефицит NO.

Таблица 1

Влияние лозартана, гидрохлоротиазида и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутрибрюшинно ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	Функциональная проба	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст	S сосудистой реакции при проведении ЭЗВД с АХ и ЭНВД с НП, усл. ед.	КЭД, усл.ед.
1	2	3	4	5	6
Интактные	Исходные	$137,7 \pm 3,7$	$101,9 \pm 4,3$		$1,1 \pm 0,1$
	АХ	$88,0 \pm 4,6$	$39,9 \pm 6,5$	$1268,0 \pm 74,8$	
	НП	$87,0 \pm 8,6$	$42,2 \pm 9,0$	$1375,3 \pm 93,7$	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	$190,3 \pm 6,7^*$	$145,0 \pm 3,9^*$		$5,4 \pm 0,6^*$
	АХ	$110,6 \pm 8,1^*$	$82,8 \pm 8,0^*$	$984,0 \pm 78,0^*$	
	НП	$88,7 \pm 4,7$	$50,8 \pm 4,2$	$3322,7 \pm 116,7^*$	
L-NAME (25 мг/кг)+лозартан (8 мг/кг)	Исходные	$138,7 \pm 8,4^{**}$	$106,0 \pm 6,5^{**}$		$2,1 \pm 0,2^{**}$
	АХ	$83,4 \pm 4,9^{**}$	$50,7 \pm 4,0^{**}$	$1119,5 \pm 93,1$	
	НП	$83,9 \pm 5,1$	$43,2 \pm 7,4$	$2300,7 \pm 247,0^{**}$	



Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
L-NAME (25 мг/кг) + гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	Исходные	161,0 ± 4,0**	119,9 ± 5,9**		2,5 ± 0,3**
	АХ	91,3 ± 4,1**	53,4 ± 3,0**	1311,0 ± 127,1**	
	НП	102,3 ± 5,6	53,4 ± 3,0	3206,2 ± 381,7	
L-NAME (25 мг/кг) + фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	Исходные	124,6 ± 4,0**	90,8 ± 7,6**		1,4 ± 0,1**
	АХ	78,6 ± 5,6**	40,9 ± 3,6**	1413,1 ± 332,0**	
	НП	86,3 ± 6,1	38,8 ± 4,4**	1825,9 ± 310,7**	

Примечание: * - $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, S – площадь над кривой восстановления артериального давления при проведении фармакологических проб, КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции.

Таблица 2

Влияние лозартана, гидрохлоротиазида и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке на показатели сократимости левого желудочка сердца крыс при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутрибрюшинно (M±m, n=10)

Группы животных	ЛЖД	+dp/dt _{max}	-dp/dt _{max}	ЧСС
Интактные	108,6±4,3	6208,1±703,2	3973,9±391,5	390,4±17,0
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	167,8±5,6*	7682,9±419,9*	5576,8±216,4*	383,3±9,8
L-NAME(25 мг/кг)+лозартан (8 мг/кг)	121,1±2,8**	6387,7±959,7	4706,5±417,1**	368,2±10,8
L-NAME (25 мг/кг)+гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	150,9±3,8**	7299,0±323,8	5400,0±298,5	371,2±3,3
L-NAME (25 мг/кг)+фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	106,1±4,6**	5642,2±671,5**	4078,7±313,4**	376,8±6,3

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ в сравнении с L-NAME, ЛЖД – левожелудочковое давление, +dp/dt_{max} – максимальная скорость нарастания левожелудочкового давления, dp/dt_{max} – максимальная скорость снижения левожелудочкового давления, ЧСС – частота сердечных сокращений.

Таблица 3

Влияние лозартана, гидрохлоротиазида и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутрибрюшинно (M±m, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (ЛЖД, мм рт. ст.)	Исчерпание миокардиального резерва, %
Интактные	199,2±8,3	83,6±4,6
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	247,3±4,8*	66,0±4,3*
L-NAME(25 мг/кг)+лозартан (8 мг/кг)	209,6±4,0**	79,2±5,0**
L-NAME (25 мг/кг)+гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	216,9±6,8**	77,7±3,5**
L-NAME (25 мг/кг)+фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	190,4±6,8**	80,2±3,9**

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



Обсуждение результатов. На сегодняшний день известно о положительном влиянии на функциональное состояние эндотелия препаратов различных фармакологических групп. Их действие, в общем, можно объяснить следующими механизмами:

- прямое воздействие на рецепторы сосудистого эндотелия;
- влияние на активность eNOS;
- восполнение дефицита эндотелиальных факторов;
- предотвращение действия медиаторов, вызывающих дисфункцию эндотелия;
- опосредованный эффект через влияние на факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний [4].

Результаты проведенных нами экспериментов свидетельствуют о эндотелиопротективном действии фиксированной комбинации лозартана и гидрохлортиазида, выражающемся в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении КЭД до уровня интактных животных.

По совокупности функциональных показателей также доказано кардиопротективное действие исследуемых препаратов: введение фиксированной комбинации лозартана и гидрохлортиазида в одной таблетке способствовало предотвращению повышения адренореактивности и истощения миокардиального резерва на фоне моделирования L-NAME-индуцированного дефицита NO в эксперименте.

Усиление эндотелио- и кардиопротективных свойств данной комбинации по сравнению с монотерапией лозартаном или гидрохлортиазидом возможно связано с различием точек приложения данных препаратов. Благоприятное воздействие лозартана на сосуды объясняется реализацией механизмов его действия: ослаблением ремоделирования гладкомышечных клеток сосудистой стенки, уменьшением пролиферации неоинтимы. Тиазидные диуретики, в частности, гидрохлортиазид оказывают прямое вазодилатирующее действие на уровне артериол [1, 2, 8]. Имеются данные, что использование тиазидных диуретиков приводит к повышению nNOS в maculae densa и eNOS в почечных сосудах в экспериментальной модели DOCA-солевой АГ у крыс, вызванной введением дезоксикортикостерона и хлорида натрия [7].

Выводы

1. Длительное (в течение 7 дней) внутривентриальное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов крыс линии Вистар нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышении значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.
2. Фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлортиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке оказывает выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений АД.
3. Фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлортиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке проявляет выраженное кардиопротективное действие, выражающееся в предотвращении увеличения адренореактивности и падения ЛЖД при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с животными, у которых моделировали L-NAME-индуцированный дефицит NO.

Литература

1. Андрущишина, Т. Б. Кардиопротективные свойства блокаторов рецепторов ангиотензина II: фокус на лозартан / Т. Б. Андрущишина, Т. Е. Морозова // Справочник поликлинического врача. – 2010. – № 4. – С. 36-39.
2. Булдакова, Н. Г. Атагонисты рецепторов ангиотензина в клинической практике // Н. Г. Булдакова // Русский медицинский журнал. – 2008. – № 11. – С. 1567-1570.
3. 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.
4. Галенко, А. С. Способы немедикаментозной и фармакологической коррекции 2oepродуктальной дисфункции / А. С. Галенко, С. Н. Шуленин // ФАРМиндекс-Практик. – 2006. – № 10. – С. 2 – 10.



5. Дисфункция эндотелия у больных гипертонической болезнью / А. И. Мартынов, Н. Г. Аветян, Е. В. Акатова и др. // Кардиология. – 2005. – Т. 45, № 10. – С. 101 – 104.
6. Жлоба, А. А. Роль АДМА в качестве эндогенного ингибитора eNOS и одного из медиаторов развития вазомоторной эндотелиальной дисфункции / А. А. Жлоба // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2007. – Т. 6, № 3 (23). – С. 4 – 14.
7. Задионченко, В. С. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия: терапевтические возможности / В. С. Задионченко, Т. В. Адашева, А. П. Сандомирская // Русский медицинский журнал. – 2002. – № 1. – С.11-15.
8. Кляшев, С. М. Эффективность комбинированного препарата Гизаар у больных артериальной гипертензией с сопутствующими цереброваскулярными нарушениями / С. М. Кляшев, С. А. Столбова // Медицинская наука и образование Урала. – 2008. – № 4 (54). – С. 11 – 14.
9. Лупинская, З. А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока / З. А. Лупинская // Вестник КРСУ. – 2003. – № 7. – С. 43-56.
10. Перспективы медикаментозного лечения эндотелиальной дисфункции / Г. А. Романовская, Е. В. Акатова, Г. Н. Гороховская и др. // Фарматека. – 2005. – № 9 (104). Неврология, Психиатрия, Педиатрия. – С. 31 – 34.
11. 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. Кочкаров, Т. Г. Покровская // Рос. Журн. Иммунологии. – 2006. – Т. 96. – С. 60–61.

STUDYING OF EFFECTS OF FIXED COMBINATION OF LOSARTAN AND HYDROCHLOROTHIAZIDE IN A TABLET AT MODELLING L-NAME-INDUCED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

A.V. BABKO¹
E.G. TEREHOVA¹
M.V. POKROVSKII²
T.G. POKROVSKIA²
M.V. KOROKIN¹
N.V. AVDEEVA¹

Studying of endothelio- and cardioprotective activity of losartan, hydrochlorothiazide and fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet was made in the laboratories of cardiofarmacology scientific research institute of Ecological medicine in experiments on rats. The received results have allowed to determine the expressed correction of endothelial dysfunction in application of the fixed combination of losartan 8 mg/kg and hydrochlorothiazide 2 mg/kg in a tablet.

¹*Kursk State Medical University*

²*Belgorod National Research University*

e-mail: bavor@mail.ru

Key words: endothelial dysfunction, L-NAME, fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet.