

## НАРИНГИН И АПИГЕНИН УЛУЧШАЮТ ВАЗОДИЛАТИРУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ НА ФОНЕ ЕГО ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

**А. В. Воронков, Д. И. Поздняков, А. В. Мамлеев**

*Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал  
ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет, Пятигорск, Россия*

В исследовании отражено влияние нарингина и апигенина на вазодилатирующую функцию эндотелия мозговых сосудов при его ишемическом повреждении. Эксперимент реализован на крысах самцах линии Wistar. Фокальную ишемию моделировали путем окклюзии средней мозговой артерии. Вазодилатирующую функцию эндотелия оценивали доплерографическим методом при модификации синтеза NO. В качестве препаратов сравнения использовали: сулодексид (Вессел Дуэ Ф, Alfa Wasserman, Италия), и Мексидол (ФАРМАСОФТ, Россия).

Полученные результаты показывают, что и нарингин, и апигенин способны сохранять вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях ишемии головного мозга крыс. При этом у животных, получавших нарингин и апигенин, наблюдается улучшение вазодилатации на введении ацетилхолина в 1,6 и 2,2 ( $p < 0,05$ ) раза соответственно, по сравнению с группой крыс негативного контроля. Кроме того, при применении исследуемых соединений, была отмечена меньшая сосудистая реакция (увеличение кровотока) в ответ на введение L-аргинина. Вазоконстрикция, опосредованная введением L-NAME, также была более выражена у крыс, получавших нарингин и апигенин, нежели чем у животных негативного контроля. При этом по величине фармакологического эффекта апигенин превосходил нарингин и не уступал таковому от применения препаратов сравнения — сулодексида и мексидола.

*Ключевые слова:* фокальная ишемия, эндотелий, эндотелиопротекция, флаваноиды, сулодексид, мексидол.

## NARINGIN AND APIGENIN IMPROVE ENDOTHELIAL VASODILATOR FUNCTION OF BRAIN VESSELS IN EXPERIMENTAL ANIMALS WITH FOCAL ISCHEMIA

**A. V. Voronkov, D. I. Pozdnyakov, A. V. Mamleev**

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Medical University,  
Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia*

The study describes the effects of naringin and apigenin on endothelial vasodilator function (EVF) of cerebral vessels after ischemia. The experiment was carried out on Wistar male rats. Focal ischemia was induced by occlusion of the middle cerebral artery. We used Doppler sonography to assess EVF through modifying NO synthesis. We used sulodexide (Vessel Due F, Alfa Wasserman, Italy) and mexidol (Pharmasoft, Russia) as reference drugs.

Our findings suggest that both naringin and apigenin can protect EVF in rats after brain ischemia. The animals which received naringin and apigenin showed that administration of acetylcholine improved vasodilation by 1.6 and 2.2 ( $p < 0.05$ ) times, respectively, as compared with negative controls. Moreover, the use of naringin and apigenin resulted in diminished vascular response (increased blood flow) caused by L-arginine administration. L-NAME-mediated vasoconstriction was more pronounced in rats treated with naringin and apigenin than in negative controls. Nonetheless, apigenin showed pharmacological effects superior to those of naringin and comparable to those of the reference drugs, sulodexide and mexidol.

*Key words:* focal ischemia, endothelium, endothelial protection, flavonoids, sulodexide, mexidol.

В настоящее время острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) представляют огромную медико-социальную проблему. По данным Всемирной организации неврологических обществ, ОНМК являются одной из самых распространенных патологий в неврологической практике. Ежегодно регистрируется не менее 700 на 100тыс. человек новых случаев ОНМК [7]. Ишемия мозга в конечном итоге приводит к обширнейшему спектру психоневрологических расстройств, нарушению когнитивных и сенсомоторных функций организма [4]. Важное социальное значение цереброваскулярной патологии состоит в том, что ишемия головного мозга способствует значительному ухудшению памяти и познавательных функций, что ведет к социальной дезадаптации пациента [7]. Кроме того, ОНМК ухудшают качество

и сокращают продолжительность жизни в среднем на 2,5 года у мужчин и 2 года у женщин [4].

Патогенез ишемического повреждения головного мозга очень сложен и многогранен. В последнее время разработана концепция, согласно которой одной из причин нарушений мозгового кровообращения является дисрегуляция системы сосудистого эндотелия [8]. В результате сбоя в системе эндотелиального механизма регуляции мозгового кровотока наблюдается активация процессов вазоконстрикции, тромбообразования, повышается продукция провоспалительных факторов, происходят морфофункциональные изменения сосудистой стенки. Подобные изменения могут усугубить течение ишемического инсульта и снизить шансы пациента на успешное выздоровление [3, 8].

Все вышеперечисленное делает эндотелий сосудов перспективной мишенью для терапевтического воздействия, а изыскание средств с потенциальной эндотелиопротекторной активностью становится одной из важнейших задач современной фармакологии [2, 4, 6, 7, 8].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка влияния нарингина и апигенина на вазодилатирующую функцию эндотелия мозговых сосудов на фоне его ишемического повреждения.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

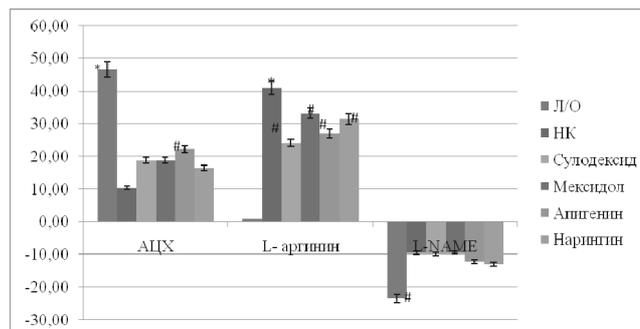
Эксперимент выполнен на 60 крысах-самцах линии Wistar, рандомизированных по возрасту и массе (200—220 г). Первую группу составили ложнооперированные крысы (Л/О) ( $n = 10$ ). Вторая группа животных ( $n = 10$ ) — негативный контроль (НК). Данной группе крыс воспроизводили ишемическое повреждение головного мозга, путем окклюзии правой средней мозговой артерии, под местом ее пересечения с обонятельным трактом (фокальная ишемия) [1]. Третьей, четвертой, пятой и шестой группам ( $n = 10$ , каждая группа) крыс также моделировали ишемию головного мозга. При этом животные 3-й и 4-й группы получали препараты сравнения: сулодексид (Вессел Дуэ Ф, Alfa Wasserman, Италия), в дозе 30 ЕВЛ (единицы высвобождения липопротеинлипазы) и мексидол (аналог по предполагаемому механизму действия) (ФАРМАСОФТ, Россия) — 30 мг/кг. 5-й и 6-й группам крыс вводили апигенин и нарингин в дозировке 100 мг/кг. Все исследуемые соединения и препараты сравнения вводились интрагастрально, через желудочный зонд, непосредственно сразу после воспроизведения ишемии головного мозга и на протяжении 3 суток. Группа НК получала 0,9%-й раствор натрия хлорида в эквивалентном количестве. По истечении указанного времени проводили оценку состояния вазодилатирующей функции эндотелия сосудов головного мозга

Оценку вазодилатирующей функции эндотелия сосудов головного мозга крыс проводили с использованием доплерографического метода — регистрация средней систолической скорости (СК) в проекции правой средней мозговой артерии при модификации синтеза эндогенного оксида азота. Среднюю систолическую скорость регистрировали с помощью ультразвукового доплерографа, датчика УЗОП-010-01 с рабочей частотой 25 МГц и рабочей компьютерной программы ММ-Д-К-Minimax Doppler v. 1.7. (Санкт-Петербург, Россия). Модификацию выброса эндогенного NO осуществляли посредством внутривенного введения тест-систем: ацетилхолин (АЦХ) 0,1 мг/кг (Sigma-Aldrich), L-аргинин 150 мг/кг (Panacea), нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) 15 мг/кг (Sigma-Aldrich). После выполнения всех необходимых исследований животные выводились из эксперимента путем мгновенной декапитации, до выхода из наркоза [1]

Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows). Вычисляли среднее значение и стандартную ошибку среднего значения. Данные выражали в виде  $M \pm \delta$ . Полученные данные проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения данных для сравнения средних использовали  $t$ -критерий Стьюдента. При ненормальном распределении результатов эксперимента дальнейшую статистическую обработку данных проводили с использованием  $U$ -критерия Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходная скорость локального мозгового кровотока у группы ложнооперированных животных составляла  $(3,509 \pm 0,153)$  см/с. В результате, стимулированного ацетилхолином, выброса эндогенного оксида азота СК у данной группы крыс увеличилась, до  $(5,145 \pm 0,221)$  см/с, то есть на 46,6 % ( $p < 0,01$ ). Внутривенное введение L-аргинина не вызвало значимого изменения скорости мозгового кровотока у Л/О животных (рис.). Введение же L-NAME привело к снижению СК на 23,5 % ( $p < 0,05$ ). Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями [1].



\*Достоверно относительно исходного значения ( $p < 0,01$ ); #достоверно относительно исходного значения ( $p < 0,05$ ).

Рис. Изменение скорости локального мозгового кровотока, при модификации синтеза NO, на фоне ишемии и при введении исследуемых соединений

У группы крыс негативного контроля на фоне введения АЦХ скорость мозгового кровотока увеличилась лишь на 10,4 %, в то же время при введении нитро-L-аргинин метилового эфира СК снизилась всего на 9,5 %. Введение субстрата синтеза оксида азота-L-аргинина привело к значительному увеличению СК у крыс группы негативного контроля. Изменения СК от ее исходного уровня составили +41 % ( $p < 0,01$ ), что может являться свидетельством развития у данных животных феномена «L-аргининового парадокса». Сопоставляя полученные данные, можно

предположить ухудшение вазодилатирующей функции эндотелия у НК группы крыс, что согласуется с литературными источниками [1].

Применение сулодексида оказало благоприятное влияние на эндотелий-зависимую продукцию вазоактивных соединений (NO). При введении АЦХ у данной группы крыс наблюдалось повышение СК на 18,7 %, от ее исходного значения. На фоне L-аргинина скорость мозгового кровотока увеличилась на 24,1 % ( $p < 0,05$ ), что меньше аналогичного значения группы НК на 70,8 %. При блокаде синтеза оксида азота L-NAME СК у крыс, получавших сулодексид, снизилась на 9,9 %. Полученные данные дают основание предполагать наличие у сулодексида эндотелий-защитных свойств, что подтверждается ранее проведенными исследованиями [5].

Аналогичная тенденция в изменении эндотелий-зависимой вазодилатации наблюдалась и при применении мексидола. На фоне АЦХ скорость локального мозгового кровотока у данных животных увеличилась на 18,8 %, а падение СК при введении нитро-L-аргинин метилового эфира составило 9,4 %. Внутривенное введение L-аргинина данным крысам привело к увеличению скорости мозгового кровотока на 33,2 % ( $p < 0,05$ ). Таким образом, применение мексидола несколько улучшило вазодилатирующую функцию эндотелия, что вероятно связано с подавлением оксидативного стресса, как одной из возможных причин развития эндотелиальной дисфункции [6].

Нарингин в дозировке 100 мг/кг способствовал улучшению вазодилатирующей функции эндотелия. Это подтверждается более выраженной вазодилатацией при введении АЦХ у данных крыс, чем у животных группы негативного контроля (увеличение СК составило 16,5 % и 10,3 % соответственно) и меньшем изменении скорости локального мозгового кровотока на фоне введения L-аргинина: был отмечен прирост СК на 31,4 %. Также у данных животных сохранилась вазореактивность к действию L-NAME, что отражается в падении скорости мозгового кровотока на 13%. Подобные изменения, вероятно, связаны с тем, что нарингин снижая активность iNOS, гиперэкспрессия которой, на фоне ишемии головного мозга, чревата осложнениями и неблагоприятным прогнозом в исходе ишемического инсульта, нормализует продукцию эндотелием NO, снижает токсичность пероксонитрита, тем самым оказывает благоприятное действие на функциональное состояние эндотелия мозговых сосудов [9—11].

Применение апигенина оказало эндотелий-позитивное действие. Так, при введении данного флавоноида АЦХ индуцированный синтез оксида азота вызвал увеличение СК на 22,2 % ( $p < 0,05$ ), при этом на фоне L-NAME скорость локального мозгового кровотока снизилась на 12,1 %. Введение L-аргинина привело к увеличению СК на 27 %, что ниже идентичного показателя группы крыс негативного контроля на 51,9 %. Полученные данные, вероятно, связаны с тем, что апигенин про-

являя антиоксидантные и противовоспалительные свойства, способен редуцировать окислительную биодegradацию NO и снижать лейкоцитарную инфильтрацию сосудистой стенки (в условиях эндотелиальной дисфункции запускается каскад реакций, приводящих к активации цитокинов: ИЛ-1, ФНО- $\alpha$  и т.д., способствующих трансэндотелиальной лейкоцитарной миграции, сопровождаемой повреждением эндотелиоцитов), нормализуя тем самым активность эндотелия сосудов головного мозга [12].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Экспериментально смоделированная ишемия головного мозга приводит к развитию эндотелиальной дисфункции, сопровождаемой угнетением ферментативных систем синтеза NO (сниженный сосудистый ответ на введение АЦХ и L-NAME в 4,53 ( $p < 0,05$ ) и 2,47 ( $p < 0,05$ ) раза соответственно)

2. Применение препаратов сулодексид и мексидол практически в равной степени способствовало улучшению вазодилатирующей функции эндотелия.

3. Введение исследуемых флавоноидных соединений (нарингина и апигенина) улучшило функциональное состояние эндотелия мозговых сосудов, в частности его вазодилатирующую функцию. При применении данных соединений сохранялся сосудистый ответ на стимулированный ацетилхолином синтез оксида азота, а также на внутривенное введение блокатора NOS-L-NAME. При этом фармакологический эффект от применения апигенина был сопоставим с таковым при введении сулодексида и мексидола.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воронков А. В., Поздняков Д. И., Мамлеев А. В. Изучение вазодилатирующей и антитромботической функций эндотелия мозговых сосудов на различных моделях его ишемического повреждения // Современные проблемы науки и образования. — 2015. — № 5; URL: <http://www.science-education.ru/128-22406>
2. Кочкаров В. И., Брусник М. С., Покровская Т. Г. Эндотелиопротективные и кардиопротективные эффекты изоскутеллярина и их комбинации с эналаприлом // Кубанский научный медицинский вестник. — 2010. — № 1 (115).
3. Черток В. М., Коцюба А. Е. Эндотелиальный (интимальный) механизм регуляции мозговой гемодинамики: трансформация взглядов // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2012. — № 2. — С. 17—26
4. Суслова Е. Ю., Вахнина Н. В. Ведение больных в раннем восстановительном периоде инсульта // Медицинский совет. — 2014. — № 18. — С. 6—10.
5. Тюренков И. Н. и др. Изучение влияния сулодексида на эндотелий-зависимую вазодилатацию мозговых сосудов у животных со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом // Сахарный диабет. — 2011. — № 3. — С. 12—15.
6. Корокин М. В., Пашин Е. Н., Бобраков К. Е. и др. Изучение эндотелиопротективного и коронарного действия производных 3-оксопиридина // Кубанский

научный медицинский вестник. — 2009. — № 4 (109). — С. 104—109.

7. Пизова Н. В., Дружинин Д. С. Патогенез и лечение хронических ишемических цереброваскулярных заболеваний // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. — 2010. — № 4. — С. 36—41.

8. Суслина З. А., Танашиян М. М., Домашенко М. А. Дисфункция эндотелия при ишемических нарушениях мозгового кровообращения // Неврология. — 2008. — Т. 1, № 2. — С. 4—11.

9. Aggarwal A., Gaur V., Kumar A. Nitric oxide mechanism in the protective effect of naringin against post-stroke depression (PSD) in mice // Life Sci. — 2010, Jun 19. — Vol. 86 (25—26). — P. 928—935.

10. Cui Q. J., Wang L. Y., Wei Z. X., et al. Continual naringin treatment benefits the recovery of traumatic brain injury in rats through reducing oxidative and inflammatory alterations // Neurochem Res. — 2014, Jul. — Vol. 39 (7). — P. 1254—126.

11. Gaur V., Aggarwal A., Kumar A. Protective effect of naringin against ischemic reperfusion cerebral injury: possible neurobehavioral, biochemical and cellular alterations in rat brain // Eur J Pharmacol. — 2009, Aug 15. — Vol. 616 (1—3). — P. 147—154.

12. Zhang T., Su J., Guo B., et al. Apigenin protects blood-brain barrier and ameliorates early brain injury by inhibiting TLR4-mediated inflammatory pathway in subarachnoid hemorrhage rats // Int Immunopharmacol. — 2015, Sep. — Vol. 28 (1). — P. 79—87.

### **Контактная информация**

**Поздняков Дмитрий Игоревич** — аспирант фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, e-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru