

© Коллектив авторов, 2014
УДК: 615.22-008.331.1

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНДОТЕЛИО- И КАРДИОПРОТЕКТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ
ЭНАЛАПРИЛА, ЛОЗАРТАНА И АМЛОДИПИНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ
ГИПЕРГОМОЦИСТЕИН ИНДУЦИРОВАННОЙ
ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ**

*М. В. Корокин, М. В. Покровский, В. И. Кочкаров, О. С. Гудырев,
Т. Г. Покровская, Л. В. Корокина, О.С. Полянская*

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет», г. Белгород

На лабораторных животных проведено исследование эндотелио- и кардиопротективных эффектов эналаприла, лозартана и амлодипина при моделировании гипергомоцистеин индуцированной эндотелиальной дисфункции. Установлено, что использование ингибиторов АПФ, блокаторов АТ1 рецепторов и блокаторов кальциевых каналов при общем, выраженном эндотелио- и кардиопротективном действии, позволяет корректировать лишь ряд показателей функционирования сосудистого эндотелия и сердечно-сосудистой системы в целом.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, эндотелиальная дисфункция, эналаприл, лозартан, амлодипин.

Исследования последних лет убедительно свидетельствуют о том, что в небольших концентрациях оксид азота (NO) – представляет уникальный по своей природе и механизмам действия вторичный мессенджер в большинстве клеток организма. Оксид азота (NO) – ведущий гуморальный эндотелиальный модулятор дилатации, релаксирующий сосуды, который вырабатывается эндотелиоцитами [7]. Клетки эндотелия выделяют большое количество различных веществ как в кровь, так и в окружающие ткани, поэтому их можно рассматривать как самую большую эндокринную систему [11].

В настоящее время под дисфункцией эндотелия понимают дисбаланс между медиаторами, обеспечивающими в норме оптимальное течение всех эндотелийзависимых процессов [8].

Коррекция эндотелиальной дисфункции и, как следствие, нарушений метаболизма оксида азота (снижение его синтеза эндотелиоцитами и сниже-

ние биодоступности) приводит к уменьшению риска возникновения, а также предупреждению патогенетических механизмов развития и клинических проявлений артериальной гипертонии, атеросклероза, сахарного диабета и их осложнений [12].

Сравнительно недавно к потенциальным факторам риска сердечно-сосудистых заболеваний стали относить гипергомоцистеинемия. Гипергомоцистеинемия может являться независимым фактором развития эндотелиальной дисфункции или усиливать уже имеющееся повреждение эндотелия.

Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективных эффектов эналаприла, лозартана и амлодипина при моделировании гипергомоцистеин индуцированной эндотелиальной дисфункции.

Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ № МК-905.2012.4.

Материалы и методы

Опыты проводились на белых крысах-самцах линии Wistar массой 200-250 г. Гипергомоцистеин индуцированную эндотелиальную дисфункцию моделировали с помощью внутрижелудочного введения метионина в дозе 3 г/кг массы. Раствор для внутрижелудочного введения метионина готовили *ex tempore* с помощью полисорбата ТВИН-80 и 1% крахмального раствора.

Животные были разделены на группы (n=10): 1 – контроль (10% раствор ТВИН 80 в дозе 1 мл/кг); 2 – метионин 3 г/кг в течение 7 дней; 3 – метионин + эналаприл 0,6 мг/кг внутрижелудочно; 4 – метионин + лозартан 5 мг/кг внутрижелудочно; 5 – метионин + амлодипин 5 мг/кг внутрижелудочно.

На 8 день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД), болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли непрерывно посредством аппаратно-программного комплекса "Вюрас". Помимо измерения АД проводили ряд функциональных проб, проводимых в представленной последовательности: 1. Проба на эндотелийзависимое расслабление сосудов (внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг массы из расчета 0,1 мл на 100г). 2. Проба на эндотелийнезависимое расслабление сосудов (внутривенное введение раствора нитропруссиды натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг массы из расчета 0,1 мл на 100г) [1, 4, 5, 6].

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД) [1, 3, 4].

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных, нахо-

дящихся на управляемом дыхании, катетеризировали полость левого желудочка и проводили нагрузочные пробы в представленной последовательности: 1. Проба на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида 1.10⁻⁵моль/л, из расчета 0,1 мл на 100 г) [2]. При проведении данной пробы проводилась оценка максимального подъема левожелудочкового давления (ЛЖД) в ответ на введение адреналина. 2. Нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 сек [2]. После проведения данной пробы рассчитывался показатель истощения миокардиального резерва (выраженный в процентах), равный отношению прироста ЛЖД на 5 секунде пережатия аорты к приросту ЛЖД на 25 секунде пережатия аорты.

Для определения стабильных метаболитов NO (NOx в мкМоль) использована модификация метода, позволяющая после депротеинизации сыворотки крови проводить одноэтапное количественное определение суммарных нитратов и нитритов. Исследование проводилось по общепринятой методике (Метельская В.А., Гуманова Н.Г., 2005).

Достоверность изменений абсолютных параметров определяли разностным методом вариационной статистики с нахождением средних значений сдвигов (M), средней арифметической ($\pm m$) и вероятности возможной ошибки (p) по таблицам Стьюдента. Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$. Статистические расчеты проводились с использованием программы Microsoft Excel 7.0.

Результаты и их обсуждение

Обнаружено, что изучаемые препараты не влияли на исходные показатели гемодинамики и значения САД и ДАД, достоверно не отличались от таковых значений животных контрольной группы во всех сериях экспериментов (табл. 1).

Обработка полученных экспериментальных данных позволила установить, что все исследуемые препараты в обозначенных дозировках обладали в различной степени выраженным эндотелиопротективным действием, выражающимся в ста-

статистически значимом уменьшении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Наименьшая эффективность обнаружена при применении эналаприла, где КЭД составил $2,1 \pm 0,2$ (в контрольной группе животных – $0,9 \pm 0,2$, при гипергомоцистеин индуцированном дефиците оксида азота – $3,3 \pm 0,3$). При применении амлодипина обнаружено максимальное снижение КЭД. В данной группе животных коэффициент эндотелиальной дисфункции составил $1,6 \pm 0,2$ (табл. 1).

При изучении NO-продуцирующей функции эндотелия обнаружено, что лозартан и амлодипин оказывают статистически значимое влияние на увеличение концентрации стабильных метаболитов оксида азота. Однако, значения NOx ($89,3 \pm 2,9$ мкМоль для лозартана и $88,7 \pm 3,1$ мкМоль для амлодипина) далеки от соответствующих значений в контрольной группе животных ($121,2 \pm 12,1$ мкМоль). Применение эналаприла не привело к изменению концентрации исследуемого показателя (табл. 1).

Таблица 1

Влияние эналаприла, лозартана и амлодипина на артериальное давление и коэффициент эндотелиальной дисфункции

| Группы животных | Проба | САД, мм рт.ст. | ДАД, мм рт.ст. | КЭД, усл. ед. | NOx, мкМоль |
|----------------------|-----------|------------------|----------------|--------------------|---------------------|
| 10%ТВИН 80 | 1мл/кг | $129,2 \pm 4,3$ | $82,4 \pm 5,9$ | $0,9 \pm 0,2$ | $121,2 \pm 9,4$ |
| Контроль | | | | | |
| Метионин 3 г/кг | 1 | $118,9 \pm 10,1$ | $76,6 \pm 7,2$ | $3,3 \pm 0,3^*$ | $72,9 \pm 4,2^*$ |
| раза/сутки 7 дней | | | | | |
| Метионин + Эналаприл | 0,5 мг/кг | $121,5 \pm 7,3$ | $81,9 \pm 6,4$ | $2,1 \pm 0,2^{**}$ | $76,1 \pm 3,8$ |
| Метионин + лозартан | 6 мг/кг | $119,9 \pm 6,9$ | $78,2 \pm 3,5$ | $1,7 \pm 0,1^{**}$ | $89,3 \pm 1,9^{**}$ |
| Метионин + амлодипин | 0,5 мг/кг | $122,4 \pm 10,5$ | $84,1 \pm 6,9$ | $1,6 \pm 0,2^{**}$ | $88,7 \pm 3,1^{**}$ |

Примечание: САД, ДАД, АД – систолическое, диастолическое артериальное давление, КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции, NOx – концентрация конечных стабильных метаболитов оксида азота.

* – $p < 0,05$ – в сравнении с группой животных, получавших 10% ТВИН 80;

** – $p < 0,05$ – в сравнении с группой животных, получавших метионин 3 г/кг

При проведении пробы на адренореактивность обнаружено статистически значимое уменьшение максимальных значений ЛЖД в сериях экспериментов с внутрижелудочным введением лозартана и амлодипина. Амлодипин в дозе 0,5 мг/кг полностью предотвращал гипергомоцистеин индуцированное повышение адренореактивности и значение ЛЖД при проведении пробы в данной группе животных составило $190,7 \pm 6,5$ мм рт.ст. ($189,7 \pm 9,1$ в контрольной группе животных и $238,1 \pm 9,2$ в группе животных, получавших метионин 3 г/кг) (табл. 2). Эналаприл не проявлял протективного действия при проведении пробы с введением адреналина.

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением эналаприл, лозартан и амлодипин предотвращали исчерпание миокардиального резерва (табл. 2).

Полученные результаты подтверждают существующие данные о эндотелипротективном действии ингибиторов ангиотензин превращающего фермента (ИАПФ), блокаторов АТ1 рецепторов, дигидропиридоновых антагонистов кальция, селективных бета-адреноблокаторов и тиазидоподобных диуретиков.

Так, в опытах на животных и клинических исследованиях показано, что тканевые эффекты ИАПФ восстанавливают функцию эндотелия, подавляют пролифе-

Таблица 2

Влияние эналаприла, лозартана и амлодипина на функциональные показатели при моделировании гипергомоцистеин индуцированной эндотелиальной дисфункции

| Группы животных | Проба | АДр, мм рт.ст | НС, % |
|--|-------|---------------|------------|
| 10%ТВИН 80 1мл/кг Контроль | | 189,7±9,1 | 85,4±5,9 |
| Метионин 3 г/кг 1 раза/сутки 7 дней | | 238,1±9,2* | 69,8±3,1* |
| Метионин + Эналаприл 0,5 мг/кг | | 221,9±10,4 | 80,4±4,7** |
| Метионин + лозартан 6 мг/кг | | 215,9±6,5** | 79,3±5,1** |
| Метионин + амлодипин 0,5 мг/кг | | 190,7±6,5** | 83,6±3,9** |

Примечание: АДр – адренореактивность, НС – нагрузка сопротивлением.

* – $p < 0,05$ – в сравнении с группой животных, получавших 10% ТВИН 80;

** – $p < 0,05$ – в сравнении с группой животных, получавших метионин 3 г/кг.

рацию и миграцию гладкомышечных клеток, нейтрофилов и мононуклеарных клеток, снижают свободнорадикальное окисление, усиливают эндогенный фибринолиз, снижают агрегацию тромбоцитов, обладают антиатерогенным действием и стабилизируют атеросклеротические бляшки у животных [10].

Благоприятное действие на эндотелиальную дисфункцию антагонистов ангиотензиновых рецепторов реализуется, по видимому, за счет блокады АТ₁-рецепторов, что приводит к снижению продукции супероксидных радикалов, уменьшению связывания NO и его накоплению [13].

Антагонисты кальция (АК) дигидропиридинового ряда (нифедипин, амлодипин, лацидипин, пранидипин, фелодипин) в эксперименте и в клинических исследованиях улучшают эндотелийзависимую вазодилатацию за счет увеличения уровня NO [9].

При проведении данного исследования показано, что эналаприл и амлодипин в дозе 0,5 мг/кг, лозартан в дозе 6 мг/кг, проявляли выраженное эндотелиопротективное действие при моделировании гипергомоцистеин индуцированной эндотелиальной дисфункции, что выражалось в

снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции, нормализации эндотелий зависимых и эндотелий не зависимых реакций. Обнаружено, что лозартан и амлодипин оказывают статистически значимое влияние на увеличение концентрации стабильных метаболитов оксида азота. Однако, значения NO_x (89,3±2,9 мкМоль для лозартана и 88,7±3,1 мкМоль для амлодипина) далеки от соответствующих значений в контрольной группе животных (121,2±12,1 мкМоль). При проведении пробы с внутривенным введением адреналина установлено что амлодипин в дозе 0,5 мг/кг полностью предотвращал гипергомоцистеин индуцированное повышение адренореактивности. Эналаприл не проявлял протективного действия на функциональной пробе с введением адреналина.

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением эналаприл, лозартан и амлодипин предотвращали падение сократимости с 5 на 25 секунду пережатия аорты.

Заключение

Таким образом, становится понятно, что стратегия применения ингибиторов АПФ, блокаторов АТ₁ рецепторов и бло-

каторов кальциевых каналов в качестве монотерапии при общем, выраженном эндотелио- и кардиопротективном действии, позволяет корректировать лишь ряд показателей функционирования сосудистого эндотелия и сердечно-сосудистой системы в целом.

Дальнейшего изучения требуют подходы к фармакологической коррекции гипергомоцистеин индуцированной эндотелиальной дисфункции с использованием препаратов с доказанным эндотелиопротективным действием, в комбинации с тетрагидробиоптеринном для многостороннего, патогенетически обоснованного изучения возможности коррекции гипергомоцистеинемии и эндотелиальной дисфункции при данном патологическом состоянии.

Литература

1. Возможности моделирования гипергомоцистеин-индуцированной эндотелиальной дисфункции у крыс / М.В. Коровкин [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 5. – С. 43-48.
2. Гурбанов К.К. Сравнительная оценка антиишемического действия верапамила на разных моделях ишемии миокарда / К.К. Гурбанов, Г.В. Ковалев, А.А. Паперно // Фармакология и токсикология. – 1991. – Т. 54, №4. – С. 21-23.
3. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте / М.В. Покровский [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2006. – № 10. – С. 72-77.
4. Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. Патент 2301015 Российская Федерация, МПК7 А61В 5/02. – № 2005113243/14. – заявл. 10.1.2006; опубл. 20.06.07. – Бюл. № 17. – 7 с.
5. Принципы фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции / М.В. Покровский [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2007. – №1-2. – С. 146-150.
6. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота / М.В. Покровский [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, №2. – С. 29-31.
7. Cooke J.P. Flow, NO and atherogenesis / J.P. Cooke // PNAS. – 2003. – Vol. 100, № 3. – P. 768-770.
8. Effect of L-arginine on atherosclerosis in Apo-E knockout and ApoE inducible NO synthase double-knockout mice / J. Chen [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2003. – Vol. 23, № 1. – P. 97-103.
9. Effects of enalapril and amlodipine on small-artery structure and composition, and on endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats / A.M. Sharifi [et al.] // J. Hypertens. – 1998. – Vol. 16, № 4. – P. 457-466.
10. Enalapril and quinapril improve endothelial vasodilator function and aortic eNOS gene expression in L-NAME-treated rats / V. De Gennaro Colonna [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 450, № 1. – P. 61-66.
11. Girdhar G. Biological effects of dynamic shear stress in cardiovascular pathologies and devices / G. Girdhar, D. Bluestein // Expert. Rev. Med. Devices. – 2008. – Vol. 5, № 2. – P. 167-181.
12. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine dimethylaminohydrolase / K.Y. Lin [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 106. – P. 987-992.
13. Losartan an angiotensin type I receptor antagonist, improves conduit vessel endothelial function in Type II diabetes / C. Cheetham [et al.] // Clin. Sci. (Lond). – 2001. – Vol. 100, №1. – P. 13-17.

**RESEARCH OF ENDOTHELIO-AND CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF ENALAPRIL,
LOZARTAN AND AMLODIPIN AT MODELLING HYPERHOMOCYSTEIN INDUCED
ENDOTHELIAL DYSFUNCTION**

*M.V. Korokin, M.V. Pokrovskii, V.I. Kochkarov, O.S. Gudyrev,
T.G. Pokrovskaia, L.V. Korokina, O.S. Polyanskaya*

On laboratory animals we investigate endothelio- and cardioprotective effects of enalapril, lozartan and amlodipine at modeling hyperhomocystein induced endothelial dysfunction. It is established that use of ACE inhibitors, blockers of ATI of receptors and calcium channels blockers at the general, expressed endothelio-and cardioprotective action, allows to correct only a number of indicators of functioning an vascular endothelium and cardiovascular system as a whole.

Keywords: hyperhomocystein, endothelial dysfunction, enalapril, lozartan, amlodipine.

Корокин Михаил Викторович – д-р мед. наук, проф. кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ БелГУ.

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Тел.: 8 (4712) 30-13-73.

E-mail: Mkorokin@mail.ru.

Покровский Михаил Владимирович – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ БелГУ.

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Кочкаров Владимир Исакович – д-р биол. наук, проф. кафедры фармхимии и фармакогнозии НИУ БелГУ.

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Гудырев Олег Сергеевич – доц. кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ БелГУ.

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Тел.: 8 (4712) 30-13-73.

E-mail: gudyrev@mail.ru.

Покровская Татьяна Григорьевна – д-р мед. наук, проф. кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ БелГУ.

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Корокина Лилия Викторовна – доц. кафедры терапии ИПМО НИУ БелГУ.

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Полянская Оксана Сергеевна – аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ БелГУ.

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.