

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ НА ВАЗОДИЛАТИРУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЕГО ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

А. В. Воронков, И. Н. Дьякова, Д. И. Поздняков¹

Изучено влияние 2 природных соединений полифенольной структуры (полифенолы зеленого чая (Sigma-Aldrich) и катехина гидрата (Sigma-Aldrich) в дозе 100 мг/кг) на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга крыс при его ишемическом повреждении. Фокальную ишемию моделировали путем окклюзии правой средней мозговой артерии. Вазодилатирующую функцию эндотелия оценивали с помощью метода доплерографии при модификации синтеза NO. В ходе эксперимента было установлено, что при фокальной ишемии головного мозга развивается выраженная эндотелиальная дисфункция, что подтверждается снижением реактивности сосудов мозга к действию сосудорасширяющего фактора – ацетилхолина (АЦХ) и развитием феномена “L-аргининового парадокса”. При применении исследуемых соединений сохраняется способность сосудов головного мозга к дилатации при введении АЦХ и наблюдается значительно меньшее (чем у группы негативного контроля) увеличение кровотока в ответ на введение L-аргинина в 3,15 и 2,29 раза при применении полифенолов зеленого чая и катехина гидрата соответственно ($p > 0,05$), что, в свою очередь, дает основание предположить наличие у исследуемых полифенольных соединений эндотелиопротекторного действия.

Ключевые слова: эндотелий; вазодилатация; фокальная ишемия; эндотелиопротекторы; полифенолы зеленого чая; катехина гидрат; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения мозгового кровообращения представляют огромную медико-социальную проблему. По данным Всемирной организации здравоохранения инсульт занимает второе место среди причин смертности населения и первое среди причин первичной инвалидности [3]. При этом около 80 % всех случаев инсульта приходится на долю ишемического повреждения головного мозга [2]. Не последнюю роль в обеспечении адекватного кровоснабжения головного мозга играет состояние эндотелия мозговых сосудов. Общеизвестно, что эндотелий сосудов выполняет множество функций, в частности посредством выделения вазоактивных веществ участвует в регуляции тонуса сосудов [9], способствующих оптимальному току крови и, как следствие, нормальному кровоснабжению органов и тканей [9, 10].

В результате ишемического повреждения головного мозга нарушается нормальная функция эндотелия [7, 12], что, в свою очередь, может усугубить повреждение нервной ткани. Напротив, сохранение оптимальной функции эндотелиоцитов может способствовать ограничению ишемического повреждения и сни-

зить риск нежелательных последствий в постишемическом периоде [11]. В связи с этим актуальным становится поиск веществ, которые в условиях церебральной ишемии способны сохранять оптимальное состояние эндотелия сосудов.

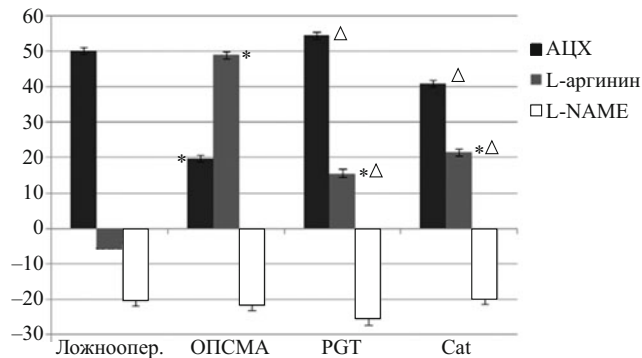
Цель данного исследования состояла в изучении влияния природных полифенольных соединений (полифенолы зеленого чая, катехина гидрат) на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга при его ишемическом повреждении в эксперименте.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 40 крысах-самцах линии Вистар массой 200 – 220 г, разделенных на 4 группы по 10 особей, полученных из вивария Пятигорского медико-фармацевтического института (Пятигорск, Россия). Содержание и все проводимые с животными манипуляции соответствовали требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Strasbourg, 22 June, 1998.)

Первую группу составили ложнооперированные животные. Вторая группа – группа негативного контроля с фокальной ишемией головного мозга. Фокальную ишемию воспроизводили у наркотизированных хлоралгидратом (350 мг/кг) крыс окклюзией правой

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ГБОУ ВПО “Волгоградский государственный медицинский университет”, Россия, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11.



Изменение скорости локального мозгового кровотока в % при модификации синтеза оксида азота у экспериментальных животных.

Примечание: ОПСМА – группа негативного контроля. Достоверно относительно: * интактной группы животных (t -критерий Стьюдента $p > 0,05$), ^Δ группы негативного контроля (t -критерий Стьюдента $p > 0,05$).

средней мозговой артерии (ОПСМА) путем ее коагуляции под пересечением с обонятельным трактом [8]. Крысам 2 оставшихся групп вводили *per os* исследуемые полифенольные соединения: полифенолы зеленого чая – PGT (Sigma-Aldrich) и катехина гидрат – Cat (Sigma-Aldrich) в дозе 100 мг/кг за 60 мин до моделирования ишемии. Крысы группы негативного контроля получали 0,9 % раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме. Оценку вазодилатирующей функции эндотелия сосудов головного мозга крыс проводили на 3 сут после моделирования фокальной ишемии измерением скорости мозгового кровотока (средней систолической скорости – СССк) в проекции 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), использующего математическую обработку сигнала быстрого преобразования Фурье (БПФ) для преобразования цветового спектра распределения кровотока. Модификацию синтеза эндогенного NO осуществляли введением тест-соединений: ацетилхолин (АЦХ) 0,1 мг/кг (Sigma-Aldrich), L-аргинин 150 мг/кг (Panreac), нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) 15 мг/кг (Sigma-Aldrich) в левую бедренную вену [4]. После выполнения всех необходимых исследований животные выводились из эксперимента путем мгновенной декапитации до выхода из наркоза.

Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики. Вычисляли среднее значение и стандартную ошибку среднего значения. Полученные данные проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения данных использовали параметрический t -критерий Стьюдента. При ненормальном распределении результатов эксперимента

дальнейшую статистическую обработку данных проводили с использованием U -критерия Мана – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке исходной скорости локального мозгового кровотока было установлено, что у ложнооперированных крыс СССк составляла $(3,75 \pm 0,15)$ см/с. В результате ОПСМА установлено статистически достоверное снижение скорости мозгового кровотока у группы негативного контроля в 2,06 раза, у группы крыс, получавших PGT и Cat, – в 2,2 и 2 раза соответственно ($p \leq 0,05$).

При исследовании эндотелий-зависимой вазодилатации, связанной с активацией выработки эндогенного NO АЦХ, выявлено значительное повышение скорости мозгового кровотока у группы ложнооперированных крыс. Прирост кровотока на фоне введения АЦХ составил 50 % ($p \leq 0,05$) от исходного значения данной группы. В условиях фокальной ишемии наблюдалось снижение реактивности сосудов головного мозга к действию NO. Данный факт находит отражение в снижении реакции сосудов на введение АЦХ у группы негативного контроля на 30,4 % ($p \leq 0,05$), по сравнению с группой ложнооперированных крыс, что согласуется с литературными данными [6]. В группе животных, получавших исследуемые соединения PGT и Cat, наблюдалась тенденция к сохранению способности сосудов к эндотелий-опосредованной вазодилатации, что подтверждается увеличением скорости локального мозгового кровотока в ответ на внутривенное введение АЦХ. Относительно исходного значения СССк у животных данных групп увеличилась на 54,4 и 40,8 % (рисунок), соответственно. В сравнении с группой негативного контроля у экспериментальных крыс, получавших PGT и Cat, наблюдалось увеличение скорости мозгового кровотока на фоне введения АЦХ в 2,8 и 2,1 раза соответственно ($p \leq 0,05$). Сохранение вазореактивности к АЦХ может свидетельствовать о развитии менее выраженной эндотелиальной дисфункции при применении исследуемых полифенольных соединений [6].

Введение L-аргинина не вызвало существенного изменения уровня локального мозгового кровотока у ложнооперированных крыс, в то время как у животных с ОПСМА наблюдалось выраженное изменение СССк, установлено увеличение мозгового кровотока от его исходного уровня на 48,8 % ($p \leq 0,05$). Полученные результаты могут свидетельствовать о развитии феномена “L-аргининового парадокса” и эндотелиальной дисфункции [5]. У групп животных, получавших PGT и Cat, также выявлен прирост кровотока в ответ на введение L-аргинина. Однако следует отметить, что изменение мозгового кровотока носило менее выраженный характер, чем у группы негативного контроля, что в свою очередь может свидетельствовать о меньшем повреждении эндотелия сосудов головного мозга

и наличии у изучаемых полифенольных соединений PGT и Cat эндотелиопротекторного действия (рисунк).

В ответ на введение нитро-L-аргинина выявлено снижение уровня локального мозгового кровотока у всех экспериментальных групп животных. При этом статистически значимых отличий между всеми экспериментальными группами крыс не установлено. Снижение мозгового кровотока, вероятно, связано с блокадой L-NAME эндотелиальной изоформы NO-синтазы (eNOS). Однако в условиях ишемии головного мозга синтез NO может осуществляться через NOS-независимые пути. Так в условиях гипоксии головного мозга возможно образование оксида азота в реакции окисления L-аргинина активными формами кислорода (O_2^{2-}), что на фоне блокады eNOS нитро-L-аргинин- метиловым эфиром способно повысить содержание NO в миоцитах мозговых сосудов [1] и снизить прессорное действие L-NAME, не влияя при этом прямо на активность эндотелиальной NO-синтазы [7].

ВЫВОДЫ

1. ОПСМА у крыс приводит к снижению скорости локального мозгового кровотока более чем в 2 раза ($p \leq 0,05$).

2. В результате ОПСМА развивается выраженная эндотелиальная дисфункция, о чем свидетельствует сниженная более чем на 30 % ($p \leq 0,05$) реакция сосудов головного мозга в ответ на введение АЦХ и развитие феномена “L-аргининового парадокса”.

3. Применение исследуемых полифенольных соединений PGT и Cat оказало выраженный эндотелиопротекторный эффект: сохраняется реактивность сосудов к действию АЦХ и скорость мозгового кровотока у крыс в условиях фокальной ишемии головного мозга на фоне введения L-аргинина увеличивается лишь на 15,5 и 21,3 % при применении PGT и Cat соответственно ($p \leq 0,05$).

текторный эффект: сохраняется реактивность сосудов к действию АЦХ и скорость мозгового кровотока у крыс в условиях фокальной ишемии головного мозга на фоне введения L-аргинина увеличивается лишь на 15,5 и 21,3 % при применении PGT и Cat соответственно ($p \leq 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. В. И. Горбачев, В. В. Ковалев, *Нарушения нитроксидергической системы при травматическом повреждении головного мозга*, РИО ИГИУВа, Иркутск (2006).
2. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, М. Ю. Мартынов, *Вестник РАМН*, № 11, 44–48 (2003).
3. *Информационный бюллетень Всемирной организации здравоохранения*, № 310, Окт.(2014), сс. 1 – 2.
4. И. Н. Тюренков., А. В. Воронков, *Эксперим. и клин. фармакол.*, № 1, 49–51(2008).
5. И. Н. Тюренков, С. В. Поройский, А. В. Воронков, *Волгоград. научно-мед. ж.*, № 1, 45 – 46 (2012).
6. И. Н. Тюренков, А. В. Воронков, А. А. Слищанс и др., *Вестник РАМН*, № 7, 50 – 57 (2012).
7. И. Ю. Панина, А. Ш. Румянцев, М. А. Меншутина и др., *Нефрология*, № 4, 28 – 46 (2007).
8. Л. Е. Назарова, И. Н. Дьякова, *Мед. вестник Башкортостана*, № 3, 133 – 135 (2011).
9. A. J. Scumpia, J. Kafel, V. H. Hallas, *Histol Histopathol.*, **22**, 815 – 823 (2007).
10. N. A. Terpolilli, M. A. Moskowitz, *Cereb. Blood Flow Metab.*, **32**, 1332 – 1346 (2012).
11. S. Van Ierssel, V. M. Conraads, E. M. Van Craenebroeck, et al., *Critical Care*, **19**, 443 (2015).
12. Yoshiki Yagita, Kazuo Kitagawa, Naoki Oyama, et al., *Cereb. Blood Flow Metab.*, **33**(10), 1532 – 1539 (2013).

Поступила 09.08.15

INFLUENCE OF NATURAL COMPOUNDS WITH POLYPHENOL STRUCTURE ON THE VASODILATION FUNCTION OF CEREBROVASCULAR ENDOTHELIUM IN RATS UNDER FOCAL ISCHEMIA CONDITIONS

A. V. Voronkov, I. N. D'yakova, and D. I. Pozdnyakov

Pyatigorsk Medico-Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, prosp. Kalinina 11, Pyatigorsk, 357532 Russia

It was studied the effect of two natural compounds with polyphenol structure, green tea polyphenols (Sigma-Aldrich) and catechol hydrate (Sigma-Aldrich) in a dose of 100 mg/kg, on the vasodilating function of endothelium in brain vessels of rats with model ischemic damage. The focal ischemia was modeled by occlusion of the right middle cerebral artery. The vasodilating function of endothelium was estimated from NO synthesis modification determined by means of the Doppler sonography technique. It was established that at the focal brain ischemia leads to the pronounced endothelial dysfunction that is confirmed by the suppressed reactivity of brain vessels to the action of a vasodilating factor (acetylcholine, Ach) and by development of the L-arginine paradox phenomenon. Upon the treatment with polyphenolic compounds studied, the ability of brain vessels to vasodilatation upon ACh introduction is retained. The observed blood flow enhancement (relative to negative control group) in response to the introduction of L-arginine significantly decreases upon the administration of green tea polyphenols and catechol hydrate (by a factor of 3.15 and 2.29, respectively). This result, in turn, gives grounds to assume that the polyphenolic compounds studied possess endothelium protecting properties.

Keywords: endothelium; vasodilation; brain focal ischemia; endothelium protection; green tea polyphenols; catechol hydrate; rats.