



УДК 615.22-008.331.1

## ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНАЛАПРИЛА И МИЛДРОНАТА

**М.В. Корокин<sup>1</sup>****Н.В. Юдина<sup>1</sup>****М.В. Покровский<sup>2</sup>****В.И. Якушев<sup>1</sup>****В.А. Руженков<sup>2</sup>****В.И. Кочкаров<sup>2</sup>****О.А. Старосельцева<sup>1</sup>***<sup>1</sup>Курский государственный  
медицинский университет**<sup>2</sup>Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет**e-mail: mkorokin@mail.ru*

В результате исследования было показано, что препараты «Берлиприл» в дозе 1,7 мг/кг и «Милдронат» в дозе 90 мг/кг оказывают выраженное эндотелиопротективное действие на модели L-NAME-индуцированного дефицита NO, что выражалось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Сочетанное применение указанных препаратов позволило обнаружить положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до уровня интактных животных и достижении целевых значений артериального давления.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, эналаприл, милдронат.

В настоящее время дисфункция сосудистого эндотелия рассматривается как один из ведущих факторов патогенеза болезней сердца и сосудов [11].

В основе нарушений, ведущих к эндотелиальной дисфункции, лежат изменения продукции синтезируемых сосудистыми эндотелиальными клетками (ЭК) биологически активных соединений, среди которых наибольшее значение, с точки зрения рассматриваемой проблемы, имеют реактивные формы кислорода (РФК) [2, 3, 13]. В эту группу высокоректогенных молекул входят молекулярный кислород и ряд его производных, образующихся во всех аэробных клетках.

Избыток РФК (супероксид-анион, гидроксильный радикал, гидроперекисный радикал, перекись водорода) вызывает и другие изменения функций эндотелия сосудов: торможение эндотелийзависимой вазодилатации; увеличение синтеза адгезивных молекул, прилипание и проникновение моноцитов в сосудистую стенку, привлечение провоспалительных белков и клеток; повышение агрегации тромбоцитов и тромбообразования, активности апоптоза и др. Иначе говоря, повышенное образование РФК при сосудистых нарушениях сопровождается выраженной дисфункцией сосудистого эндотелия. Они (особенно супероксид-анион –  $O_2^-$ ) обладают способностью тормозить экспрессию и снижать активность eNOS, а также связывать и инактивировать NO, уменьшать его содержание в клетке. Сдвиг физиологического равновесия между NO и  $O_2$  в сторону последнего нередко ведет к образованию высокотоксичного пероксинитрита ( $ONOO^-$ ), вызывающего повреждение мембран и ДНК клетки, мутации, апоптоз, способствующего развитию воспалительных процессов и других нарушений [13, 14].

Следует отметить, что продукция какой-либо одной РФК может вызывать образование нескольких других. Все они накапливаются в клеточной мембране и могут оказывать неблагоприятные влияния на функции клетки, что ведет, в частности, к вытеканию (утечке) плазмолеммы и дисфункции мембранно-связанных рецепторов [12]. Конечные продукты перекисного окисления липидов, включая ненасыщенные альдегиды и другие метаболиты, обладают сильными цитотоксическими и мутагенными свойствами.

При экспериментальном моделировании артериальной гипертензии у животных увеличение реактивных форм кислорода приводит к эндотелиальной дисфункции, что подтверждается улучшением эндотелийзависимой релаксации при применении антиоксидантов [9].

Моделирование хронической почечной недостаточности у животных показало, что усиленная продукция РФК приводит к снижению биодоступности NO и проявлениям эндотелиальной дисфункции, корригируемой предварительной терапией антиоксидантами [8].



На моделях диабета 2 типа у животных избыточное образование свободных радикалов кислорода также приводило к эндотелиальной дисфункции [10].

Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелиопротективных эффектов милдроната, эналаприла и их комбинации на модели L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции.

**Материалы и методы.** Опыты проводили на самцах белых крыс линии Вистар массой  $250 \pm 50$  г. Для моделирования эндотелиальной дисфункции внутрибрюшинно вводился неселективный блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) в дозе 25 мг/кг/сут. в течение 7 дней.

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) измеряют непрерывно посредством датчика и компьютерной программы «Віорас». Помимо измерения АД проводили ряд функциональных тестов с последующей оценкой изменения параметров гемодинамики (САД, ДАД, ЧСС) в ответ на внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭЗВД) [4, 6, 15], а также изменения параметров гемодинамики в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭНВД) [4, 6].

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (ЭНВД) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (ЭЗВД) [4, 5].

Экспериментальные животные были разделены на группы (n=10): I – интактные; II – с введением L-NAME; III – с введением на фоне L-NAME эналаприла («Берлиприл» пр-ва Берлин-Хеми АГ) в дозе 1,7 мг/кг внутрижелудочно, однократно в сутки в течение 7 дней; IV – с введением на фоне L-NAME милдроната («Милдронат» пр-ва АО «Гриндекс») в дозе 90 мг/кг внутрижелудочно, однократно в сутки в течение 7 дней; V – с введением на фоне L-NAME комбинации эналаприла и милдроната в указанных выше дозах.

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.** Влияние эналаприла в дозе 1,7 мг/кг, милдроната в дозе 90 мг/кг и их сочетанного применения «Кардионат» и «Милдронат» на исходные показатели артериального давления у наркотизированных крыс с моделированием L-NAME-индуцированной патологии представлены в табл. 1. Значения показателей САД и ДАД в группе интактных животных приняты целевыми значениями артериального давления. Обнаружено, что применение эналаприла в дозе 1,7 мг/кг предотвращает развитие выраженной гипертензии, и значения САД и ДАД, достоверно не отличались от соответствующих значений интактных животных. Милдронат в дозе 90 мг/кг не оказывал статистически значимого влияния на значения САД и ДАД (см. табл.). Сочетанное применение препаратов обнаружило положительное фармакодинамическое взаимодействие, и значения показателей артериального давления достигали целевых уровней (см. табл.).

Результаты 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 эналаприлом, милдронатом и их комбинацией позволили установить, что при сочетанном при-



менении исследуемых препаратов коэффициент эндотелиальной дисфункции снижался максимально среди остальных экспериментальных групп и значение КЭД в данной группе составило  $1,1 \pm 0,2$ . КЭД в группе интактных животных составил  $1,1 \pm 0,1$ , в группе животных, получавших L-NAME, –  $5,4 \pm 0,6$  (см. табл.).

Таблица

**Влияние препаратов «Берлиприл» и «Милдронат» на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME-индуцированного (25 мг/кг внутривенно, однократно в течение 7 дней) дефицита оксида азота ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

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.
Интактные	Исходные	137,7 ± 3,7	101,9 ± 4,3		1,1 ± 0,1
	АХ	84,3 ± 4,5	38,7 ± 2,8	1268,0 ± 74,8	
	НП	83,0 ± 3,7	42,1 ± 4,4	1375,3 ± 93,7	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*		5,4 ± 0,6*
	АХ	110,6 ± 5,2*	82,8 ± 6,6*	695,3 ± 87,6*	
	НП	88,7 ± 4,7	50,8 ± 4,2	3322,7 ± 116,7*	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг) + эналаприл (1,7 мг/кг)	Исходные	144 ± 6,2**	101,3 ± 3,9**		1,5 ± 0,2**
	АХ	86,4 ± 4,7**	63,5 ± 6,7**	1025,3 ± 98**	
	НП	98,2 ± 8,7**	54,1 ± 9,4	1537,9 ± 66,1**	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг) + Милдронат (90 мг/кг)	Исходные	178,1 ± 10,3	129,6 ± 6,2		1,4 ± 0,2**
	АХ	101,4 ± 7,6	61,3 ± 7,3**	1163,9 ± 101,1**	
	НП	98,9 ± 4,9	65,7 ± 2,8**	1629,46 ± 123,9**	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг) + Милдронат (90 мг/кг) + эналаприл (1,7 мг/кг)	Исходные	129,1 ± 5,4**	97,1 ± 4,8**		1,1 ± 0,1**
	АХ	82,1 ± 3,9**	48,7 ± 2,1**	1201,0 ± 123,8**	
	НП	91,0 ± 3,2	44,3 ± 3,8	1321,1 ± 104,1**	

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.

**Обсуждение результатов.** В настоящее время для коррекции состояний, сопровождающихся эндотелиальной дисфункцией, перспективными считаются препараты, обладающие антиоксидантной активностью, так как главным механизмом, лежащим в основе эндотелиальной дисфункции, является снижение продукции и биодоступности NO при одновременном повышении уровня супероксид аниона вследствие увеличения окислительной активности НАДФ [1].

Образование оксида азота сопровождается его взаимодействием с супероксид-анион-радикалом с образованием пероксинитрита, который ответственен за нитрование тирозина [1], цитотоксичность оксида азота и за общее и перманентное повреждение тканей за счет окисления гидроксильным радикалом, а также за развитие атеросклероза. В малых дозах NO и пероксинитрит препятствуют атеросклерозу, но при наличии атеросклероза развивается токсический эффект из-за накопления пероксинитрита в атеросклеротической бляшке [1].



В этой связи, стратегия понижения уровня и прогрессирования атеросклероза, вызванного указанными явлениями, заключается в использовании антиоксидантов с целью сохранения NO-индуцированных сигнальных путей в сосудах [1].

Милдронат, который сам антиокислительными свойствами не обладает, увеличивает в организме концентрацию гамма-бутиробетайна (ГББ), потому что под воздействием милдроната он окисляется в карнитин медленнее обычного. В свою очередь ГББ может индуцировать образование NO, который является одним из самых эффективных поглотителей свободных радикалов в организме. За счет роста под влиянием милдроната концентрации ГББ объясняется весьма неожиданный эффект влияния милдроната на периферическое сопротивление (которое уменьшается), уменьшение вызванных норадреналином или ангиотензином спазмов, замедление агрегации тромбоцитов и улучшение эластичности мембран эритроцитов. Милдронат, увеличивая количество ГББ, способен защищать клетки также от эффектов свободных радикалов, но это осуществляется через индукцию биосинтеза NO. Следовательно, милдронат способствует появлению физиологически регулируемого количества NO, позволяющего организму самому осуществить необходимый для него уровень защиты от радикалов.

В исследования, проведенных в нашей лаборатории ранее, показано выраженное эндотелиопротективное действие эналаприла в дозе 0,6 мг/кг и милдроната в дозе 80 мг/кг. Однако исследование эндотелиопротективных свойств указанных препаратов в терапевтических дозировках, как и исследование сочетанного применения эналаприла и милдроната, на выбранной модели эндотелиальной дисфункции не проводилось [4, 6].

Проведенные экспериментальные исследования позволяют заключить, что препараты «Берлиприл» в дозе 1,7 мг/кг и «Милдронат» в дозе 90 мг/кг оказывали выраженное эндотелиопротективное действие на модели L-NAME-индуцированного дефицита NO, что выражалось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Сочетанное применение указанных препаратов позволило обнаружить положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в снижении КЭД до уровня интактных животных и достижении целевых значений артериального давления.

В заключение можно сказать, что выяснение конкретных механизмов оксидативного стресса, приводящего к возникновению эндотелиальной дисфункции, представляет не только теоретический, но и несомненный практический интерес. Рассмотренные выше и другие аспекты этой проблемы могут служить основой для разработки соответствующих профилактических и терапевтических мероприятий, направленных на предотвращение или устранение отмеченных нарушений — одного из ведущих факторов патогенеза болезней сердечно-сосудистой системы.

**Выводы.** 1. Длительное (в течение 7 дней) внутрибрюшинное 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. Эналаприл в дозе 1,7 мг/кг и милдронат в дозе 90 мг/кг оказывают выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений артериального давления.

3. При сочетанном применении эналаприла в дозе 1,7 мг/кг и милдроната в дозе 90 мг/кг обнаружено положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в достижении целевых значений артериального давления и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до уровня интактных животных.

### Литература

1. Гацура, В. В. Противоишемический и кардиопротективный эффект мексидола / В.В. Гацура, В.В. Пичугин, Л.Н. Сернов и др. // Кардиология. – 1996. – № 1. – С. 59-62.
2. Марков, Х. М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система / Х.М. Марков // Успехи физиол. наук. – 2001. – Т. 32. – № 3. – С. 49-65.



3. Марков, Х. М. Сосудистые эффекты липопротеинов и оксид азота: клеточные и молекулярные механизмы / Х. М. Марков // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2006. – №3. – С. 2-7.
4. Покровский, М. В. Исследование кардиопротективного действия каптоприла в эксперименте с регистрацией трансмуральной компрессии в очаге ишемии / М.В. Покровский, Д.Е. Скопин, Е.Б. Артюшкова и др. // Человек и лекарство: тез. докл. IV Рос. нац. конгр. (8-12 апр. 1997 г.). – М., 1997. – С.102.
5. Покровский, М. В. Метаболическая и антиоксидантная терапия L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции/ М.В. Покровский, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская и др.// Кубанский научный медицинский вестник. – 2008. – №3-4. – С.73-78.
6. Покровский, М. В. Новый взгляд на коррекцию эндотелиальной дисфункции/ М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская и др.// Российский журнал иммунологии. – 2006. – Т.9. – С. 60-61.
7. Покровский, М. В. Принципы фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции/ М.В. Покровский, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская и др.// Кубанский научный медицинский вестник. – 2007. – №1-2. – С.146-150.
8. Frisbee, J. C. Impaired NO-dependent dilation of skeletal muscle arterioles in hypertensive diabetic obese Zucker rats / J.C.Frisbee, D.W. Stepp //Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2001. – Vol. 281. – P. H1304–H1311.
9. Heitzer T., Schlinzig T., Krohn K. et al. // Circulation. – 2001.- Vol. 104, N 22. – P. 2638-2646.
10. Heitzer, T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease/ T. Heitzer, T. Schlinzig, K. Krohn et al. //Circulation. – 2001. – Vol. 104. – P. 2673–2678.
11. Herbst U., Toborek M., Kaiser S. et al. // J. Cell. Physiol. – 1999. – Vol. 181. – P. 295-303.
12. Suzuki, T. Eicosapentaenoic acid protects endothelial cells against anoikis through restoration of cFLIP/ T. Suzuki, K. Fukuo, T.Suhara et al. //Hypertension. – 2003. – Vol. 42. – P. 342-348.
13. Taniyama Y., Griendling K. K. // Hypertension. – 2003. – Vol. 42, N 6. – P. 1075-1081.
14. Touys R. M. // Curr. Hypertens. Rep. – 2000. – Vol. 2. – P. 98-105.

## ENDOTELIOPROTECTIVE ACTION OF ENALAPRIL AND MILDRONAT

**M.V. Korokin<sup>1</sup>**

**N.V. Yudina<sup>1</sup>**

**M.V. Pokrovskiy<sup>2</sup>**

**V.I. Yakushev<sup>1</sup>**

**V.I. Ruzhenkov<sup>2</sup>**

**V.I. Kochkarov<sup>2</sup>**

**O.A. Starosel'tseva<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Kursk State Medical University*

*<sup>2</sup>Belgorod National Research University*

*e-mail: mkorokin@mail.ru*

As a result of research it has been shown, that preparations «Berlipril» in a dose of 1,7 mg/kg and «Mildronat» in a dose of 90 mg/kg render expressed endothelioprotective action on model of L-NAME-induced deficiency NO that was expressed in prevalence endothelium dependent relaxations of vessels and factor decrease of endothelial dysfunction. Combined application of the specified preparations has allowed to find out positive pharmacological interaction expressed in decrease CED to level intact of animals and achievement of target values of arterial pressure.

Key words: endothelial dysfunction, enalapril, mildronat.