

И.Н. Тюренков^{1, 2}, А.В. Воронков², А.А. Слиецанс², Е.В. Волотова¹

¹ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России

²НИИ фармакологии ВолгГМУ Минздравсоцразвития России, Волгоград

Эндотелиопротекторы — новый класс фармакологических препаратов

В обзоре рассмотрена эндотелиальная функция/дисфункция в обеспечении ряда физиологических и патофизиологических процессов, а также функционирования различных систем организма. Проведен анализ возможных путей фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции (ЭД). Исходя из существующих экспериментальных и клинических данных о важной роли эндотелиальной системы в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, с одной стороны, а с другой — отсутствия специфических средств профилактики и лечения ЭД, рассматривается целесообразность и актуальность поиска и разработки лекарственных средств с эндотелиопротекторным действием (ЭПД). При решении подобных задач, связанных с поиском и разработкой нового класса лекарственных средств, в лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ВолгГМУ был разработан и внедрен в экспериментальную практику комплексный морфофункциональный подход к оценке ЭД и ЭПД веществ, а также прошли тестирование многие модели ЭД. В результате целенаправленного поиска среди производных ГАМК и флавоноидов выделены новые перспективные соединения — флавицин (флавоноид) и салифен (производное ГАМК), обладающие более выраженными ЭПД, чем сердечно-сосудистые средства, антиоксиданты с метаболотропными эффектами, остальные изученные производные ГАМК.

Ключевые слова: оксид азота, эндотелиальная функция/дисфункция, эндотелиопротекторы, салифен, флавицин.

50

В последние 30 лет пристальное внимание специалистов теоретической и клинической медицины привлекает эндотелиальная система. Достижения фундаментальной медицины, молекулярной биологии, биохимии, экспериментальной и клинической фармакологии позволяют сегодня рассматривать эндотелий как высокоспециализированную, метаболически активную систему, продуцирующую значительное число биологически активных веществ, являющихся конечным звеном нейрогенной и гуморальной регуляции, сосудистого тонуса, его антитромботической, противовоспалительной и антипролиферативной функции. Нормальная работа эндотелия рассматривается как ключевая в поддержании сосудистого гомеостаза. Основные эндотелиальные факторы и их функции можно представить следующим образом [1] (табл. 1).

Необходимо отметить, что многие патогенетические факторы (оксидативный стресс [2], гиперхолестеринемия, гипергликемия [3], инсулинорезистентность [3, 4], артериальная гипертензия [5], снижение уровня половых гормонов [6], гипергомоцистеинемия [7], курение [8, 9], пожилой возраст [10] и др.) могут нарушить работу эндотелия, сдвигая его основные функции в сторону вазоконстрикции, усиления процессов тромбообразования, воспаления, пролиферации и вызывая тем самым его дисфункцию.

На сегодняшний день установлено, что практически все сердечно-сосудистые заболевания — артериальная гипертензия [5], нарушение мозгового кровообращения [11], легочная гипертензия, ишемическая болезнь сердца [5], хроническая сердечная недостаточность [12, 13], хроническая почечная недостаточность [14, 15], арте-

I.N. Tyurenkov^{1, 2}, A.V. Voronkov², A.A. Slietsans², E.V. Volotova¹

¹Volgograd State Medical University, Department of Pharmacology and Biopharmaceutics

²Cardiovascular Agents Laboratory of the Research Institute of Pharmacology

Endothelial protection drugs — a new class of pharmacological agents

This review considers issues dealing with the role of nitric oxide and endothelial function/dysfunction in providing a number of physiological and pathophysiological processes and various body systems functioning. It also covers in details the possible ways of pharmacological management of endothelial dysfunction (ED) using drugs of different pharmacological groups (classes). Diverse pharmacological effects which have various degree of intensity and presented at various stages of ED pathogenesis are discussed. The value and urgency of search and development of agents with endothelial protection potential are studied in available experimental and clinical works on the considerable role of endothelial system in cardiovascular diseases and lack of specific means for prevention and treatment of endothelial dysfunction. Integrated morphological-functional approach to assessment of ED and endothelial protection of substances was developed and implemented in experimental practice in Cardiovascular Agents Laboratory of the Volgograd State Medical University Research Institute of Pharmacology. Various ED models were tested and most valid ones were selected. Endothelial protection of new compounds such as Salifen and Flavicin are considered and compared with cardiovascular drugs, antioxidants with metabolic effects, GABA derivatives. These drugs are assumed to belong to a new class of drugs — endothelial protection drugs.

Key words: nitric oxide, endothelial function, endothelial dysfunction (ED), endothelial protection, Salifen, Flavicin.

риосклероз [16, 17] — в большей или меньшей степени сопряжены с эндотелиальной дисфункцией [18], которая многими специалистами рассматривается как неблагоприятный прогностический фактор развития сердечно-сосудистых заболеваний [19]. Кроме того, эндотелиальная дисфункция (ЭД) играет важную роль в развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта [20, 21], ревматоидного артрита, диабета [5, 22], гестоза, метаболического синдрома [21], бронхиальной астмы и т.д. [23]. Именно поэтому эндотелий стал рассматриваться как самостоятельная мишень терапевтического воздействия с целью профилактики и лечения сосудистых осложнений и снижения риска развития различных сердечно-сосудистых заболеваний [24, 25].

Таким образом, актуальной проблемой экспериментальной и клинической фармакологии стал поиск веществ с эндотелиопротекторным действием не только среди известных препаратов, но и путем создания новых соединений.

На сегодняшний день известно о положительном влиянии на функциональное состояние эндотелия препаратов различных фармакологических групп.

Эндотелиотропное действие и возможные механизмы различных групп препаратов в общем виде представлены на рис. 1.

Доноры оксида азота (органические нитраты, натрия нитропруссид, молсидомин, нитроглицерин и др.), подвергаясь метаболизму в организме, высвобождают оксид азота и пополняют его резервы в стенках сосудов. Учитывая ключевую роль в образовании оксида азота его исходного субстрата L-аргинина и то, что при различных патологических состояниях накапливаются его структурные аналоги, которые конкурируют за транспортные системы, обеспечивающие перенос оксида азота в клетку и конкурирующие за NOs [26], можно предположить, что дополнительный прием L-аргинина может устранить или уменьшить дефицит образования оксида азота в организме. В современных схемах медикаментозной терапии все более широко используются стратегии метаболической терапии. Примером такого подхода является использование донатора оксида азота — L-аргинина, который

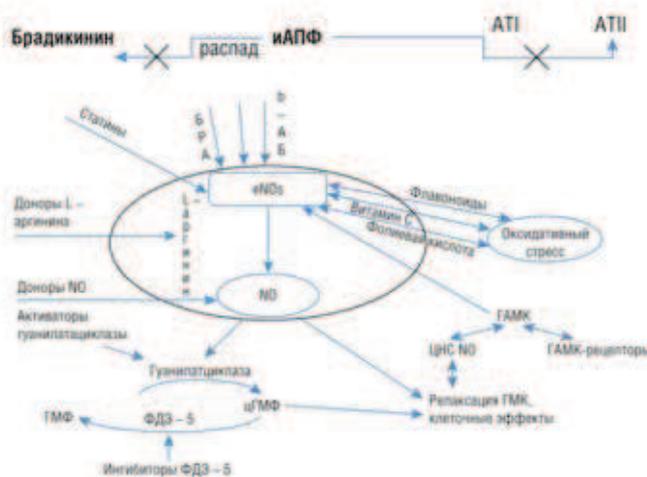


Рис. 1. Возможные пути фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

Примечание. иАПФ — ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента; АТ₁, АТ₂ — ангиотензин I, II; ФДЭ — фосфодиэстераза; ГМФ — гуанозинмонофосфат; ГМК — гладкомышечные клетки; ГАМК — γ-аминомасляная кислота.

Таблица 1. Эндотелиальные факторы и их функции

<p><i>Эндотелиальные факторы, оказывающие сосудорасширяющее действие</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Оксид азота (NO) 2. Простаглин 3. Эндотелий-гиперполяризующий фактор (EDHF)
<p><i>Эндотелиальные факторы, оказывающие сосудосуживающее действие</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Эндотелин 2. Ангиотензин I-АI (возможно, ангиотензин II-АII) 3. Тромбоксан 4. 20-Гидроксиэйкозатетраеновая кислота (20-HETE) 5. Экспрессия на поверхности эндотелиальных клеток ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), конверсия AI в AII
<p><i>Участие в регуляции сосудистого тонуса иным способом</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Важность сохранения целостности эндотелия для ряда вазодилатирующих стимулов, например ацетилхолина и т.д.
<p><i>Факторы, влияющие на агрегацию и свертываемость крови</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Тромборезистентная поверхность эндотелия (одинаковый заряд поверхности эндотелия и тромбоцитов препятствует «прилипанию» — адгезии — тромбоцитов к стенке сосуда) 2. Простаглин и NO — естественные дезагреганты 3. Тканевой активатор плазминогена (t-PA) 4. Экспрессия на поверхности клеток эндотелия тромбомодулина — белка, способного связывать тромбин и гепариноподобные гликозаминогликаны
<p><i>Тромбогенные факторы</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Фактор фон Виллебранда (VWF) 2. Фактор активации тромбоцитов 3. Аденозиндифосфат (АДФ) 4. Тромбоксан А2 5. Ингибитор активатора плазминогена 6. Тромбоспондин 7. Коллаген и эластин 8. Фибронектин
<p><i>Антивоспалительные факторы</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Оксид азота 2. Трансформирующий фактор роста (TGF) β 3. Интерлейкины-4, 10, 11, 13 4. Миграцию-ингибирующий фактор (MIF) 5. Липопротеин высокой плотности (ЛПВП) 6. Антагонист рецептора IL-1 (IL-1-RA) 7. Провоспалительные факторы 8. Оксид азота 9. Индуцибельная синтаза оксида азота 10. P-селектин, E-селектин 11. Молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1, VCAM-1) 12. Белок хемотаксиса моноцитов (monocyte chemoattractant protein-1 - MCP-1) 13. Колонистимулирующий фактор моноцитов (MCSF) 14. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) 15. Фактор некроза опухоли (TNF) α 16. С-реактивный белок (CRP) 17. Тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor — PDGF) 18. Интерлейкины-1, 6, 8, 12 19. γ-Интерферон
<p><i>Факторы пролиферации и участия в регуляции роста гладкомышечных клеток (ГМК)</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Эндотелиальный фактор роста (ЭФР) 2. Факторы роста фибробластов (основной и кислый) 3. Эпидермальный фактор роста

доказал эффективность при разнообразных заболеваниях внутренних органов. Примеры таких препаратов — Вазотон, ЛонгаДНК и др. [27].

Активаторы NO-чувствительной гуанилатциклазы (новые соединения YC-1 и BAY 58-2667, ODQ). Так, оксид азота, высвобождаемый эндогенно NO-синтазой или экзогенно донорами NO, активирует NO-чувствительную гуанилатциклазу и приводит к увеличению синтеза цГМФ. Этот внутриклеточный посланник в свою очередь модулирует активность цГМФ-зависимых киназ, цГМФ-ионные каналы и цГМФ-фосфодиэстеразы. Эти эффекторы принимают участие в регуляции ряда физиологических функций сердечно-сосудистой и нервной систем. Установлено, что соединение YC-1 усиливает стимулирующее действие NO и, следовательно, является «NO-сенситизатором»; BAY 58-2667 преимущественно активирует гемсодержащую форму фермента. ODQ, напротив, тормозит NO-чувствительную гуанилатциклазу путем окисления гема железа, снижая базальную активность фермента [28].

Ингибиторы ФДЭ-5. Увеличение уровня цГМФ приводит к прямой активации фосфодиэстеразы 5, которая в свою очередь ингибирует цГМФ. Ингибиторы ФДЭ-5 способствуют синтезу NO и увеличению эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) [29].

Метаболиты фолиевой кислоты (5-метил тетрагидрофолат) улучшают функцию эндотелия сосудов, увеличивая биодоступность оксида азота, и защищают его от действия окислительного стресса.

Соединения, блокирующие ферментативные пути синтеза из аргинина других метаболитов (орнитина, агматина, креатинина).

Антиоксиданты (синтетического и природного происхождения) [30]. В последние годы широко изучаются эндотелиотропные эффекты антиоксидантов [31, 32], однако в реальной клинической практике не всегда удается улучшить ЭЗВД [33] и антитромботическую функцию эндотелия [34, 35].

Ингибиторы протеинкиназы С. При эндотелиальной дисфункции на фоне сахарного диабета отмечается увеличение в клетках, в том числе в эндотелиоцитах, продукта липидного обмена диацилглицерина, что активирует протеинкиназу, которая в свою очередь тормозит утилизацию глюкозы клетками. Отсюда логично вытекает применение средств, ингибирующих протеинкиназу С (рубоксистерина лизат) [36].

Однако L-аргинин, донаторы оксида азота, вещества, повышающие чувствительность гуанилатциклазы к NO или тормозящие его инактивацию, еще не нашли широкого клинического применения и не доказали своей эффективности в клинической практике. Для коррекции нарушений функции эндотелия широко применяются кардиотропные препараты, у которых эндотелиопротективное действие является важным дополнительным (плейотропным), но не основным действием (суммированные данные представлены в табл. 2).

Однако, если не считать сердечно-сосудистых средств с плейотропным (эндотелиопротективным) действием, других высокоэффективных препаратов коррекции ЭФ с доказанной клинической эффективностью нет. Вместе с тем не при всех патологиях и не во всех случаях эти препараты могут найти применение с целью коррекции ЭД при профилактике и лечении различных сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений. Например, при гестозе противопоказаны ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ), блокаторы АТ1-рецепторов, нежелателен прием ряда β-адреноблокаторов. Порой

проблематично назначение данных препаратов и у лиц с нормальным уровнем артериального давления.

Исходя из важной роли эндотелиальной системы в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (сердечно-сосудистого континуума), с одной стороны, и отсутствия специфических средств профилактики и лечения ЭД — с другой, следует считать целесообразным и актуальным поиск и разработку лекарственных средств с эндотелиопротекторным действием.

При решении подобных задач, связанных с поиском и разработкой нового класса лекарственных средств, творческому коллективу необходимо решить как минимум три задачи:

- выбрать методы простые и недорогие, одновременно информативные и хорошо воспроизводимые;
- выбрать, а возможно, и вновь разработать валидные экспериментальные модели ЭД;
- осуществить выбор перспективных для разработки химических веществ, по возможности новых и оригинальных.

Для изучения эндотелиальной функции разработано множество методических приемов: функциональных, биохимических, морфологических, инвазивных и неинвазивных, базирующихся на определении ее маркеров (NO или его метаболитов, эндотелина, циркулирующих эндотелиоцитов, фактора Виллибранда, С-реактивного белка, асимметричного диметиларгинина и др). При изучении ЭФ широко используются подходы, оценивающие реакции сосудов при воздействии на них физических или химических факторов.

В лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ВолгГМУ прошли тестирование многие модели ЭД; две из них, обусловленные стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом и недостаточностью половых гормонов [50, 51], по нашему мнению, в значительной степени отвечают названным требованиям. Для изучения основных функций эндотелия в условиях нормы и экспериментальной патологии нами был разработан комплексный морфофункциональный подход [50].

Оценка эндотелий-зависимой вазодилатации при введении ацетилхолина является «золотым стандартом» при ее тестировании. Используя различные модуляторы системы оксида азота (ацетилхолин, L-аргинин, различные ингибиторы NO-синтаз), мы смогли дать функциональную оценку базальной (на введение нитро-L-аргинина) и стимулируемой выработке оксида азота (на введение ацетилхолина), а также оценить мощность и стабильность NO-синтазной системы по реакции на многократное введение ацетилхолина через короткие промежутки времени [50, 52]. Сравнение степени увеличения диаметра и кровотока в определенном сосуде или сосудистой области в ответ на введение ацетилхолина и нитроглицерина (или нитропруссиды натрия) позволяет сделать вывод о выраженности эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации.

Антитромботическую функцию эндотелия изучали по скорости образования тромба в сосуде при аппликации на адвентицию сосуда ватного валика, смоченного 50% раствором хлорного железа, а также по изменению связанных с эндотелием систем агрегации и гемостаза [53]. В дополнение к этому определяли в крови число десквамированных эндотелиоцитов [54, 55], а для анализа возможных патогенетических механизмов повреждения эндотелия или эндотелиопротективного действия исследуемых веществ анализировали апоптоз эндотелиальных клеток, апоптотический индекс, экспрессию

Таблица 2. Возможные механизмы улучшения функции эндотелия под влиянием препаратов, применяющихся для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

Группа препаратов	Механизмы улучшения функции эндотелия
иАПФ	<ol style="list-style-type: none"> 1. Уменьшение уровня ангиотензина II (индуктор оксидантного стресса) и повышение активности кининов (брадикинина — стимулятора высвобождения эндотелий-расслабляющих факторов — NO, простациклина) 2. Снижение инсулинорезистентности (ИР), улучшение гликемического контроля, отсутствие отрицательного влияния на липидный и пуриновый обмен. 3. Способность улучшать эндотелиальную функцию (прямое влияние на активность NO-синтазы, ↑ NO, ↑ простациклин, ↓ эндотелин) 4. Ингибирование процессов атерогенеза (впервые продемонстрирована в исследовании TREND) [37–39] 5. Антиоксидантная активность некоторых иАПФ (лизиноприл) 6. Антитромботическая активность (↓прокоагуляционного потенциала) [40–42]
Блокаторы АТ1-рецепторов	<ol style="list-style-type: none"> 1. При увеличенной продукции АП, в условиях блокады АТ1-рецепторов создаются условия для стимуляции рецепторов АТ2. Это может привести к вазодилатации и подавлению пролиферации через повышенный синтез оксида азота (NO) и систему брадикинина 2. Снижение ИР, благоприятное воздействие на метаболический профиль, в том числе на процесс оксидативного стресса, синдром пероксидации и профилактика развития атеросклероза 3. Улучшение эндотелиальной функции резистивных артерий на фоне терапии лозартаном за счет увеличения высвобождения NO 4. Оптимизация агрегации тромбоцитов [40, 42]
Антагонисты кальция	<ol style="list-style-type: none"> 1. Вазопротективные и антиатеросклеротические свойства 2. Снижение ИР 3. Положительное влияние на показатели тромбоцитарно-сосудистого и фибринолитического звеньев гемостаза 4. Антиоксидантные свойства [40, 43]
β-блокаторы	<ol style="list-style-type: none"> 1. Активация NO-синтазы (под действием небиволола и карведилола) [5] 2. Снижение гиперсимпатикотонии [42, 44]
Тиазидные и тиазидоподобные диуретики	<ol style="list-style-type: none"> 1. Повышение активности нейрональной и эндотелиальной NO-синтазы 2. Прямое вазодилатирующее действие за счет повышения биодоступности NO, уменьшения его разрушения (индапамид), антиоксидантных свойств 3. Комбинированное лечение иАПФ (периндоприла) и индапамида сопровождается увеличением базальной продукции NO [39, 42]
Фибраты	<ol style="list-style-type: none"> 1. Снижение активности воспаления в сосудистой стенке, восстановление барьерной функции эндотелия 2. Антиоксидантный эффект 3. Благоприятное влияние на гемостаз [45, 46]
Статины	<ol style="list-style-type: none"> 1. Улучшение эндотелий-зависимой вазодилатации, увеличение растяжимости и уменьшение жесткости сосудистой стенки 2. Коррекция дислипидемии 3. Антиагрегантное и антиоксидантное действие [46, 47]
Сулодексид	<ol style="list-style-type: none"> 1. Вазопротекторное, антитромбогенное, фибринолитическое действие 2. Липидкорректирующий эффект [48, 49]

эндотелиальной NO-синтазы и эндотелина, каспазы 3, TRAIL, NF-κB, что дополняет и повышает достоверность в оценках развития ЭД при ее воспроизведении и терапевтического потенциала исследуемых веществ.

В лаборатории НИИ фармакологии ВолгГМУ было проведено комплексное сравнительное изучение эндотелиотропного действия сердечно-сосудистых средств различных групп (иАПФ, блокаторов ангиотензиновых рецепторов, β-адреноблокаторов), производных ГАМК, веществ с антиоксидантным действием. Сердечно-сосудистые средства различных групп были выбраны, во-первых, для валидации используемых методов оценки эндотелиотропных эффектов, а во-вторых, для сравнения с ними влияния на функцию эндотелия других, в том числе и новых веществ.

ГАМКергическая система и производные ГАМК требуют пристального внимания химиков, фармакологов,

клиницистов всего мира. Волгоградские фармакологи уже в течение 40 лет ведут целенаправленный поиск в ряду производных γ-аминомасляной кислоты веществ с кардиоваскулярным, нейро- и психотропным, церебропротекторным действием, базируясь на ряде свойств, характерных для различных производных ГАМК:

- центральном симпатингибирующем действии [56, 57];
- способности подавлять активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы;
- антигипоксическом и антистрессорном действии [56, 57];
- стимулировать eNOS и увеличивать продукцию NO.

Можно предположить, что производные ГАМК оказывают эндотелиопротективное действие. В результате целенаправленного поиска среди 48 производных ГАМК, у которых ранее были обнаружены церебро-, кардио- и вазопротекторные свойства, наиболее выраженное

эндотелиопротекторное действие выявлено у 2 веществ — цитрокарда и салифена.

Нами выполнено исследование эндотелиотропных эффектов антиоксидантов синтетической природы — Мексидола, Предуктала, Дибикора и Милдроната — в сравнении с природными флавоноидами: кверцетином, диосмином, байкалином, гесперидином, флавицином и др., выделяемых, главным образом, из растительного сырья.

Флавоноидные соединения в настоящее время рассматриваются как перспективные эндотелиопротекторы [58, 59]:

1) способные стимулировать синтез NO через усиление экспрессии eNOS [60, 61];

2) тормозить избыточное образование NO через подавление iNOS [62], гиперпродукция которого данным ферментом связана с окислительным стрессом через взаимодействие NO с O₂⁻ с образованием ONOO⁻, реактивного метаболита, опосредующего повреждение тканей, в том числе эндотелиоцитов, увеличивая их десквамацию [63, 64];

3) выступать в качестве «ловушек» NO радикала, предупреждая образование пероксинитрита, и вследствие этого стимулировать ЭЗВД [65].

Имеется большое число данных о том, что флавоноиды способны улучшать прогноз больных с сердечно-сосудистой патологией [66, 67] и снижать риск их осложнений [68]. Данные эффекты флавоноидов объясняются их антиоксидантным [65, 69] и эндотелиопротективным действием [58], ингибирующим влиянием на оксидативный стресс и улучшением эндотелиальной функции, которые лежат в основе данных патологических состояний.

При эндотелиальной дисфункции, вызванной экспериментальным сахарным диабетом и недостаточностью половых гормонов, эндотелиопротективное действие оказывали все флавоноиды, но по степени нормализации ЭЗВД и улучшения антитромботической и противовоспалительной функции эндотелия флавицин превосходил другие исследуемые флавоноиды и антиоксиданты. Флавицин представляет собой сумму дигликозидов диосметина — смесь 7-О-ксилозил- и 7-О-арабинозилглюкозидов диосметина, которая была выделена из надземной части горошка обрубленного (*Vicia truncatula*). Установлена его высокая антиоксидантная активность, положительное влияние на

микроциркуляцию, гемореологические свойства крови. Полученные данные делают флавицин перспективным для дальнейшего изучения в качестве эндотелиопротективного средства при различных состояниях, ассоциированных с развитием эндотелиальной дисфункции.

В рамках короткого сообщения нет возможности подробно представить данные о преимуществах салифена и флавицина перед другими исследуемыми известными препаратами и новыми веществами по влиянию на ЭЗВД, антитромботическую, противовоспалительную, антипролиферативную функции. В качестве примера приведем данные об эндотелиопротективных эффектах салифена и флавицина в сравнении с иАПФ — лизиноприлом и статином (симвастатином), которые, по данным клинической практики и по нашим экспериментальным данным, выражено улучшают ЭЗВД.

Степень увеличения кровотока на введение ацетилхолина (активатор синтеза NO) и степень падения кровотока на введение нитро-L-аргина (блокатор eNO-синтазы), то есть более высокая базальная и стимулируемая продукция оксида азота наблюдается у животных, получавших салифен и флавицин, по сравнению с животными, получавшими лизиноприл и симвастатин (рис. 2).

Кроме того, были получены данные о более высокой и стабильной реакции на многократное введение ацетилхолина у групп животных, получавших в качестве фармакологической поддержки салифен и флавицин. Все показатели свидетельствуют о значительном нормализующем действии салифена и флавицина на ЭЗВД при ЭД животных с эндотелиопротекторным действием и недостаточностью половых гормонов, более выраженном в сравнении с лизиноприлом и симвастатином (рис. 3).

Еще более выраженное преимущество салифена и несколько в меньшей мере флавицина перед статином и иАПФ отмечено при изучении их влияния на антитромботическую функцию эндотелия. Салифен и флавицин также повышали противовоспалительную функцию эндотелия у животных с эндокринной патологией, уменьшая содержание в крови маркера воспаления сосудистой стенки — С-реактивного белка (табл. 3).

Функциональные тесты были подтверждены данными, полученными при гистоморфологическом исследовании, которые свидетельствуют о том, что соединения салифена и флавицина увеличивают активность e-NOS, снижают уровень эндотелина, что объясняет их эндотелиопротекторное действие.

54

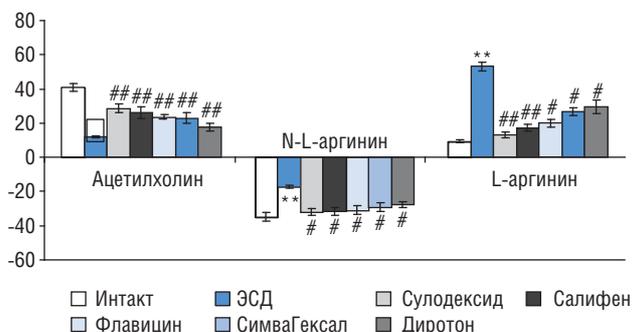


Рис. 2. Изменения кровотока при модификации синтеза эндогенного оксида азота у животных с ЭЗД, получавших изучаемые соединения.

Примечание. ЭЗД — экспериментальный сахарный диабет; * — p<0,05, ** — p<0,01 — различия статистически значимы по отношению к группе интакта; # — p<0,05, ## — p<0,01 — различия статистически значимы по отношению к группе животных с ЭЗД.

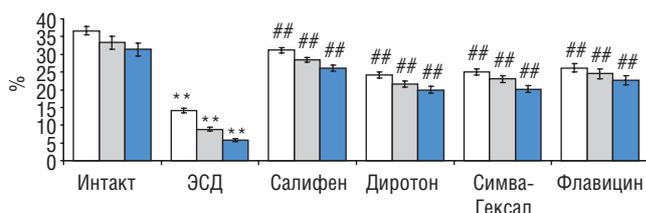


Рис. 3. Влияние изучаемых веществ на изменения прироста скорости кровотока у животных с ЭЗД при многократном введении ацетилхолина (0,01 мг/кг).

Примечание. ЭЗД — экспериментальный сахарный диабет; * — p<0,05, ** — p<0,01 — различия статистически значимы по отношению к группе интакта; # — p<0,05, ## — p<0,01 — различия статистически значимы по отношению к группе животных с ЭЗД.

Таблица 3. Иммуногистохимические характеристики эндотелиоцитов, индексы апоптоза и пролиферации эндотелиоцитов, морфометрическая оценка экспрессии эндотелина и e-NOS, количество циркулирующих эндотелиоцитов, а также уровень С-реактивного белка у животных с ЭСД, получавших изучаемые соединения

Показатели		Интакт	ЭСД	Флавицин	Салифен
Интенсивность экспрессии	Каспаза 3	+	+	+	++
	TRAIL	+	++	++	++
	NF-kB	+	++	++	+
Количество клеток	Каспаза 3	+	++	+	+
	TRAIL	+	+	+	+
	NF-kB	+	+	+	+
Апоптотический индекс, %		3,6±0,2	36,2±2,9**	19,25±1,9#	14,3±1,2##
Оптическая плотность (единицы яркости)*	Эндотелин (Clone RJT)	35,9±3,5	79,2±3,6*	45,7±4,4##	52,0±2,4#
	Эндотелиальная NOS (Clone RN5)	86,3±3,2	34,4±2,7**	74,4±2,4##	58,3±2,3#
Циркулирующие эндотелиоциты/100 мкл		3,2±0,85	8,5±0,78 **	6,4±1,01##	4,4±0,98##
СРБ, мг/мл		2,78±0,14	14,64±0,89**	10,35±1,31#	13,21±1,15#

Примечание. ЭСД — экспериментальный сахарный диабет; * — p<0,05, ** — p<0,01 — различия статистически значимы по отношению к группе интакта; # — p<0,05, ## — p<0,01 — различия статистически значимы по отношению к группе животных с ЭСД.

текторное действие. Кроме того, у животных с экспериментальным сахарным диабетом и недостаточностью половых гормонов, получавших салифен и флавицин, количество циркулирующих эндотелиоцитов было значительно меньше, чем у животных контрольных групп с гормональной недостаточностью, что является важным показателем уменьшения выраженности повреждения эндотелия сосудов (см. табл. 3).

Флавицин и салифен статистически значимо снижают у животных с экспериментально-вызванной эндотелиальной дисфункцией число десквамированных эндотелиоцитов. Можно предположить, что увеличение числа циркулирующих эндотелиоцитов связано с активацией программы «внешнего апоптоза», запуск которого ассоциирован с действием свободнорадикальных процессов, активацией провоспалительных агентов. Известно, что вне зависимости от причины активации апоптоза определяющую роль в его развитии занимают каспазы, образующие взаимно активирующий друг друга, разветвленный, многократно дублирующий себя каскад. В результате взаимодействия каспазного каскада активируется эффекторная каспаза 3, которая вызывает расщепление внутриклеточных белков и влечет гибель клетки [70]. Кроме того, в запуске программы апоптоза значительную роль играют расположенные на клеточной мембране специфические рецепторы TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand) — важнейший сигнальный путь запуска апоптоза различными факторами, вызывающими повреждение эндотелиоцитов.

Активация TRAIL-рецепторов через ряд биохимических процессов неразрывно связана с усилением работы «доменов смерти», что, в конечном счете, приводит к гибели клетки. В основе апоптотического повреждения эндотелиоцитов при различных патологических состояниях может лежать активация ядерного фактора каппа В (NF-kB) — потенциал-чувствительного транскрипционного фактора, регулирующего, в частности, ген экспрессии многих цитокинов, факторов роста, молекул адгезии и ферментов, включенных в процессы иммунитета и противовоспалительный ответ [70]. Исследуемые вещества — салифен и флавицин — достоверно снижали уровень экспрессии каспазы 3, TRAIL и NF-kB у животных со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом, недостаточностью половых гормонов, что может лежать в основе их антиапоптотического действия (см. табл. 3).

Таким образом, салифен и флавицин у животных с экспериментальной эндотелиальной дисфункцией оказывают выраженное эндотелиопротекторное действие. Эти вещества могут стать представителями нового класса лекарственных средств — эндотелиотропных, которые займут самостоятельное место не только в кардиологии для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, но и в профилактике и лечении сосудистых осложнений, обусловленных эндокринной патологией; а также в акушерстве и гинекологии для профилактики и лечения гестозов, в хирургии, травматологии и ортопедии, неврологии, спортивной медицине и др.

REFERENCES

- Petrishchev N.N. Disfunctiia e'ndoteliia. Prichiny, mehanizmy, farmaqologicheskaja qorreqctiia. SPb. 2003. 184 s.
- Markov KH.M. Oqsidativny' i' stress i disfunctiia e'ndoteliia. Patologicheskaja fiziologija i e'ksperimental'naja terapiia. 2005; 4: 5–9.
- Butrova S.A. Metabolicheskii' sindrom: patogenez, klinika, diagnostika, podhody' q lecheniiu. Russkii' medicinskii' zhurnal. 2001; 2: 56–60.
- Pitocco D. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. Rev Diabet Stud. 2010; 7 (1): 15–25.
- Dzhanashiiia P.KH. Remodelirovanie serdca i ego rol' v formirovaniu aritmiu' u bol'ny'kh sahar'ny'm diabetom tipa 2 i arterial'noi' gipertoniei'. Rossiiskii' kardiologicheskii' zhurnal. 2008; 6: 10–14.
- Tiurenqov I.N., Voronqov A.V., Robertus A.I Razvitie e'ndotelial'noi' disfunctii pri nedostatochnosti polovy'kh gormonov. Patologicheskaja fiziologija i e'ksperimental'naja terapiia. 2009; 4: 33–36.
- Kalmy'qov Iu.M. Gomocistein — prediqtor patologicheskikh izmenenii' v organizme cheloveqa. Russkii' medicinskii' zhurnal. 2009; 17 (4): 224–228.

8. Campisi R., Czernin J., Scheder H. Effects of long-term smoking on myocardial blood flow, coronary vasomotion, and vasodilator capacity. *Circulation*. 1998; 98: 119–25.
9. Zeiher A.M., Schachinger V., Minners J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation*. 1995; 92: 1094–1100.
10. Petrosian K.R., Avtandilov A.G. Strukturo-funktsional'ny'e izmeneniia arterii' u qurishchikh muzhchin v voznastnom aspekte. *Rossii'sqii' kardiologicheskii' zhurnal*. 2008; 3: 35–40.
11. Shumakher G.I. Rol' disfunktsii' e'ndoteliia v zapuske immunopatologicheskikh reaktcii' pri khronicheskoi' ishemii golovnogo mozga. *Biulleten' Sibirsqoi' meditsiny'*. 2008; 5: 214–219.
12. Endres M., Heuschmann P.U., Laufs U., Hakim A.M. Primary prevention of stroke: blood pressure, lipids, and heart failure. *Eur Heart J*. 2011; 32: 545–552.
13. Maltais S. The bone marrow-cardiac axis: role of endothelial progenitor cells in heart failure. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2011; 39: 368–374.
14. Chugunova L.A., Shestaqova M.V., Shamhalova M.Sh. Primenenie glikozaminoglikanov v lechenii diabeticheskoi' nefropatii. *Saharnyi' diabet*. 2009; 3 (4): 34–36.
15. Tessari P., Cecchet D., Cosma A. et al. Nitric oxide synthesis is reduced in subjects with type 2 diabetes and nephropathy. *Diabetes*. 2010; 59: 2152–2159.
16. Vorob'eva E.N., Shumakher G.I., Horeva M.A., Osipova I.V. Disfunktsiia e'ndoteliia – kliuchevoe zveno v patogeneze ateroskleroza. *Rossii'sqii' kardiologicheskii' zhurnal*. 2010; 2: 84–91.
17. Markov K.H.M. L-arginin – oqsid azota v terapii boleznei' serdtsa i sosudov. *Kardiologiya*. 2005; 6: 87–95.
18. Markov K.H.M. Oqsid azota i ateroskleroz. Oqsid azota, disfunktsiia sosudistogo e'ndoteliia i patogeneze ateroskleroza. *Kardiologiya*. 2009; 11: 64–74.
19. Karpov Iu.A. Disfunktsiia arterial'nogo e'ndoteliia i ee znachenie dlia ocenki prognoza u bol'ny'kh serdechno-sosudisty'mi zabolevaniiami. *Kardiovaskularnaia terapiia i profilaktika*. 2010; 2: 69–73.
20. Bondarenko V.M. Immunologicheskoe i molekularno-geneticheskoe osnovy' patogeneza khronicheskikh vospalitel'ny'kh zabolevani' qishechnika. *Immunologiya*. 2010; 4: 215–219.
21. Zvenigorodskaia L.A., Nilova T.V. Oqsid azota qaq marqer vospaleniia pri steatogepatite u bol'ny'kh s metabolicheskimi sindromom. *Russkii' meditsinskii' zhurnal*. 2008; 10 (2): 47–50.
22. Bashqirova Iu.V. E'ndotelial'naia disfunktsiia i miqrotcirkulatorny'e narusheniia u bol'ny'kh sahar'ny'm diabetom 2 tipa. *Biulleten' Sibirsqoi' meditsiny'*. 2008; 6: 182–186.
23. Smirnov I.E., Volqov I.K., Kucherenko A.G. i dr. Interle'i'qiny' i oqsid azota pri poroqakh razvitiia legkikh i bronhov u detei'. *Rossii'sqii' pediatricheskii' zhurnal*. 2010; 1: 12–17.
24. Tamargo J., Caballero R., Gomez R., Delpon E. Cardiac electrophysiological effects of nitric oxide. *Cardiovasc Res*. 2010; 87: 593–600.
25. Versari D., Daghini E., Viridis A. et al. Endothelial dysfunction as a target for prevention of cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 2009; 32: 314–21.
26. Neroev V.V., Davy'dova G.A., Perova T.S. Primenenie donorov oqsida azota i ingibitorov NO-sintaz pri uveitakh, travmakh i drugoi' oftal'mopatii. *Clinicheskaya oftal'mologiya*. 2005; 4 (6): 172–175.
27. Stepanov Iu.M., Kononov I.N., ZHurbina A.I. Arginin v meditsinskoi' praktike (obzor literatury'). *ZHurnal AMN Ukrayny'*. 2004; 10 (1): 340–352.
28. Severina I.S., Piataqova N.V., Busy'gina O.G. Rastvorimaia guanilatciclaza v mehanizme dei'stviia fiziologicheskikh e'fektov oqsida azota. *Voprosy' meditsinskoi' himii*. 1999; 5: 435–436.
29. Novy'i' podhod q lecheniiu bol'ny'kh e'reqtil'noi' disfunktsiei': postoianny'i' priem ingibitorov fosfodie'sterazy' 5 tipa (Obzor literatury') *Russkii' meditsinskii' zhurnal*. 2008; 9: 620–624.
30. Duvall W.L. Endothelial dysfunction and antioxidants. *Mt Sinai J Med*. 2005; 72 (2): 71–80.
31. Frei B. On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999; 222 (3): 196–204.
32. Azen S.P., Qian D., Mack W.J. et al. Effect of supplementary antioxidant vitamin intake on carotid arterial wall intima-media thickness in a controlled clinical trial of cholesterol lowering. *Circulation*. 1996; 94: 2369–2372.
33. Silvestro A., Scopacasa F., Oliva G. et al. Vitamin C prevents endothelial dysfunction induced by acute exercise in patients with intermittent claudication. *Atherosclerosis*. 2002; 165 (2): 277–284.
34. KHebodarov F.E. Disfunktsiia sosudistogo e'ndoteliia i ee qorreqtsiia tsitoprotektorami u bol'ny'kh stabil'noi' stenoqardiei' napriazheniia i arterial'noi' gipertoniei'. *Rossii'sqii' kardiologicheskii' zhurnal*. 2009; 6: 34–39.
35. Elliott T.G., Barth J.D., Mancini G.B. Effects of vitamin E on endothelial function in men after myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1995; 76 (16): 1188–1190.
36. Aiello L.P. Effect of ruboxistaurin in patients with diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol*. 2007; 125: 318–324.
37. Medvedev I.N., Gamolina O.V. Vliianie lizinopriila na tromboticarnuiu aktivnost' u bol'ny'kh arterial'noi' gipertoniei' s narusheniem tolerantnosti q gliukoze. *Rossii'sqii' kardiologicheskii' zhurnal*. 2008; 3: 45–49.
38. Cohen P.B., Cope R.L., Michel O. Measurement of cardiac output in anaesthetized animals by the riodilution method. *Am J Physiol*. 1980; 239 (17): 416–421.
39. Patel A., MacMahon S., Chalmers J. et al. Effects of a fixed combination of perindopril and indapamide on macrovascular and microvascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus (the ADVANCE trial): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007; 370: 829–840.
40. Zadionchenko V.S., Adasheva T.V. Disfunktsiia e'ndoteliia i arterial'naia gipertonii: terapevticheskoe vozmozhnosti. *Rossii'sqii' meditsinskii' zhurnal*. 2001; 1 (145): 11–15.
41. Medvedev I.N., Kumova T.A. Oslablenie agregatsionnoi' sposobnosti trombotitsitov u bol'ny'kh arterial'noi' gipertoniei' pri metabolicheskomi sindrome na fone lozartana. *Rossii'sqii' kardiologicheskii' zhurnal*. 2008; 5: 53–56.
42. Taddei S. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications. *Drugs*. 2002; 62: 265–284.
43. Krasnova N.M. Vliianie qombinatcii' verapamila s e'nalaprilom i indapamidom na plazmennyy'i', sosudisto-trombotitsitarnyy'i' gemostaz i biokhimicheskoe marqery' disfunktsii' e'ndoteliia u bol'ny'kh arterial'noi' gipertenziei' s metabolicheskimi sindromom. *Rossii'sqii' kardiologicheskii' zhurnal*. 2008; 3: 49–55.
44. Olei'niqov V.E'. Vliianie qarvedilola na insulinorezistentnost' qaq faqtor, opredeliaiushchii' klinicheskuiu e'fektivnost' pri metabolicheskomi sindrome. *Rossii'sqii' kardiologicheskii' zhurnal*. 2009; 9: 59–65.
45. Aleeva G.N., ZHurvleva M.V., Sapel'niqova E'.R. Gipolipidicheskaia terapiia u bol'ny'kh sahar'ny'm diabetom 2 tipa. *Rossii'sqii' meditsinskii' zhurnal*. 2005; 13 (6): 377.
46. Ametov A.S., Soqareva E.V. Statiny' v profilaktike i upravlenii sahar'ny'm diabetom tipa 2. *Rossii'sqii' meditsinskii' zhurnal*. 2007; 15 (11): 922–925.
47. Tawfik H.E. Simvastatin improves diabetes-induced coronary endothelial dysfunction. *J Pharm Exp Ther*. 2006; 319 (1): 386–395.
48. Svetuhin A.M., Zemlianoi' A.B. Rezul'taty' primeneniia sulodeqsida u bol'ny'kh s diabeticheskoi' stopoi' bez qriticheskoi' ishemii. *Terapevticheskii' arhiv*. 2001; 4: 31–33.

49. Broekhuizen L.N. Effect of sulodexide on endothelial glycocalyx and vascular permeability in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2010; 53 (12): 2646–55.
50. Tiurenqov I.N., Voronqov A.V. Metodicheskii' podhod q ocenqe e'ndotelial'noi' disfunktcii v e'qsperimente. *E'qsperimental'naia i clinicheskaja farmaqologija*. 2008; 71 (1): 49–51.
51. Tiurenqov I.N. Novaia meditsinskaia tekhnologija: ispol'zovanie vy'sochastotnoi' ul'trazvuqovoi' dopplerografii dlia izucheniia vliianiia farmaqologicheskikh veshchestv na regionarnoe qrovoobrashchenie i e'ndotelial'nuu funqtciiu: Metodicheskoe posobie. *Volgograd: Izd-vo VolGМУ*. 2010. 28 s.
52. Voronqov A.V., Robertus A.I., Tiurenqov I.N. Izuchenie «L-argininovogo paradoqsa» dlia ocenqi e'ndotelial'noi' funqtcii v norme i patologii. *Regionarnoe qrovoobrashchenie i miqrotcirkuliaciia*. 2008; 3 (27): 54–57.
53. Kurza K.D. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride. *Thrombosis Research*. 1990; 60 (4): 269–280.
54. Petrishchev N.N., Berqovich O.A., Vlasov T.D. Diagnosticheskaja cennost' opredeleniia desqvamirovanny'kh e'ndotelial'ny'kh cletoq v qrovi. *Clinicheskaja i laboratornaia diagnostika*. 2001; 1: 50–52.
55. Hladovec J. Desquamation of endothelial cell. *Physiol. Bohemoslov*. 1978; 27: 140–144.
56. Petrov V.I. Vliianie gamma-aminomaslianoi' qisloty' i glitcina na somato-simpaticheskie refleqsy'. V qn.: *Farmaqologija protsessov reguliacii qrovoobrashcheniia*. *Volgograd*. 1977. S. 105–109.
57. Petrov V.I., Lebedev V.P. GAMKergicheskii' nishodiashchii' put' tormozheniia simpaticeskikh preganglionarny'kh nei'ronov boqovy'kh rogov spinnogo mozga. V qn.: *Farmaqologija protsessov reguliacii qrovoobrashcheniia*. *Volgograd*. 1979. S. 50–53.
58. Tiurenqov I.N., Voronqov A.V., Slietcans A.A. i dr. Zavisimost' mezhdu antioqsidantny'm dei'stviiem flavonoidov i ikh vlianiem na vazodilatoriuushchuiu funqtciiu e'ndotelii v usloviakh e'ndotelial'noi' disfunktcii. *E'qsperimental'naia i clinicheskaja farmaqologija*. 2010; 73 (10): 14–17.
59. Yamamoto M. Short-term effects of glucosyl hesperidin and blood pressure and vascular endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2008; 54 (1): 95–98.
60. Th.Wallerath A blend of phenolic compounds explains the stimulatory effect of red wine on human endothelial NO synthase. *Nitric Oxide*. 2005; 12: 97–104.
61. Lorenz M. A constituent of green tea, epigallocatechin-3-gallate, activates endothelial nitric oxide synthase by a phosphatidylinositol-3-OH-kinase-, cAMP-dependent protein kinase-, and Akt-dependent pathway and leads to endothelial-dependent vasorelaxation. *J Biol Chem*. 2004; 279 (7): 6190–6195.
62. Dias A.S. Quercetin decreases oxidative stress, NF-kappaB activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr*. 2005; 135 (10): 2299–2304.
63. Chi Y.S., Cheon B.S., Kim H.P. Effect of wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*, on the suppression of cyclooxygenase-2 and the induction of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells. *Biochem Pharmacol*. 2001; 61 (10): 1195–1203.
64. Cotellet N. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem*. 2001; 1 (6): 569–590.
65. Wang L. Distinctive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonols. *J Agric Food Chem*. 2006; 54 (26): 9798–9804.
66. Perez-Vizcaino F. Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic Res*. 2006; 40 (10): 1054–1065.
67. Freedman J.E. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation*. 2002; 103 (23): 2792–2798.
68. Perez-Viacaino F. Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic Res*. 2006; 40 (10): 1054–1065.
69. Viridis A. Endothelial dysfunction, vascular damage and clinical events: role of antioxidant therapy. *High Blood Press. Cardiovasc Prev*. 2004; 11: 15–27.
70. Nakayama T., Hattori M., Uchida K. et al. The regulatory domain of the inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor is necessary to keep the channel domain closed: possible physiological significance of specific cleavage by caspase 3. *Biochem J*. 2004; 377 (2): 299–307.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Тюренков Иван Николаевич, член-корреспондент РАН, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздравсоцразвития России, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздравсоцразвития России

Адрес: 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, д. 3

Тел./факс: (8442) 97-81-80

E-mail: fibfuv@mail.ru

Воронков Андрей Владиславович, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздравсоцразвития России

Адрес: 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, д. 3

Тел./факс: (8442) 97-81-80

E-mail: prohor.77@mail.ru

Слиецанс Анна Альбертовна, кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздравсоцразвития России

Адрес: 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, д. 3

Тел./факс: (8442) 97-81-80

E-mail: fibfuv@mail.ru

Волотова Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздравсоцразвития России

Адрес: 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, д. 3

Тел./факс: (8442) 97-81-80

E-mail: a-zlato@mail.ru