

© Воронков А.В., Геращенко А.Д., 2020

УДК 611.018.74/547.978.4/615.32

Воронков А.В., Геращенко А.Д.

Эндотелиопротекторные свойства АТАСЛ и катехин гидрата в условиях истощающих нагрузок крыс

Пятигорский медико-фармацевтический институт филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, 357532, г. Пятигорск, Россия, пр. Калинина, д. 11

Цель исследования – изучение эндотелиопротекторных свойств АТАСЛ и катехин гидрата в сравнении с известным лекарственным препаратом Сулодексид в условиях истощающих нагрузок крыс. **Методика.** Истощающие нагрузки воспроизводили методом Порсолта – принудительного плавания животных с нагрузкой до полного истощения и борьбы за жизнь. Эксперименты выполнены на 50 крысах-самцах Wistar (200-220 г), разделенных на 5 групп ($n=10$). Вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга оценивали методом доплерографии с использованием программного комплекса «Minimax Doppler», производства компании «Минимакс» (Санкт-Петербург, Россия). **Результаты.** Показано, что на фоне истощающих нагрузок наблюдалось значительное ухудшение вазодилатирующей и антитромботической функций эндотелия мозговых сосудов, что проявлялось снижением реакции сосудов в ответ на введение анализаторов (АЦХ и L-NAME), развитием «феномена L-аргининового парадокса», повышением как степени, так и агрегационной способности (скорости) тромбоцитов. Исследуемые соединения АТАСЛ и катехин гидрат способствовали коррекции эндотелиальной дисфункции, что выражалось в статистически значимом увеличении скорости кровотока при внутривенном введении АЦХ у животных групп, получавших АТАСЛ на 26,1%, катехин гидрат – на 24,5%, относительно исходной скорости кровотока. АТАСЛ (4-гидрокси-3,5-ди-tert-бутилкоричная кислота) оказывал выраженное влияние на антитромботическую функцию, при этом статистически значимо снижалась степень агрегации тромбоцитов на 99,3% и скорости агрегации – на 136,6%, относительно аналогичных показателей группы крыс негативного контроля. **Заключение.** Соединение АТАСЛ представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве актопротекторного средства, обладающего эндотелиопротекторной активностью.

Ключевые слова: 4-гидрокси-3,5-ди-tert-бутилкоричная кислота (АТАСЛ), эндотелиопротекторы; актопротектор; катехин гидрат; истощающие физические нагрузки

Для цитирования: Воронков А.В., Геращенко А.Д. Эндотелиопротекторные свойства АТАСЛ и катехин гидрата в условиях истощающих нагрузок крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(2): 74-79.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.74-79

Для корреспонденции: Геращенко Анастасия Дмитриевна, e-mail: anastasia_gerashchenko@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Воронков А.В., Геращенко А.Д.; сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста – Геращенко А.Д.; редактирование – Воронков А.В.

Поступила 18.10.2019

Принята к печати 20.04.2020

Опубликована 28.05.2020

Voronkov A.V., Gerashchenko A.D.

Endothelium-protective properties of ATACL and catechin hydrate in exhaustive exercise of rat

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Affiliate of the Volgograd State Medical University, Prospekt Kalinina 11, Pyatigorsk 357532 Russia

Aim. To study possible endothelium-protective properties of catechin hydrate and ATACL in comparison with a well-known drug Sulodexide in exhaustive physical exercise of rats. **Methods.** Exhaustive exercise was produced by forced swimming of rats with a load until exhaustion and struggle for life. Experiments were performed on 50 Wistar male rats (200-220 g) divided into 5 groups ($n=10$ in each group). The endothelial vasodilatory function of cerebral blood vessels was evaluated with the Doppler method using Minimax Doppler equipment and software (Minimax, St. Petersburg, Russia). **Results.** Exhaustive exercise induced a significant impairment of vasodilatory and antithrombotic endothelial functions, which was evident as decreased response of cerebral blood vessels to acetylcholine (ACH) and L-NAME, development of the L-arginine paradox, and increases in both platelet aggregation degree and rate. ATACL (4-hydroxy-3,5-di-tert-butyl cinnamic acid) and catechin hydrate provided correction of the endothelial dysfunction, which was evident from increased blood flow velocity in response to intravenous administration of ACH by 26.1%

in the ATACL group ($p < 0.05$) and by 24.5% in the catechin hydrate group ($p < 0.05$) compared to the baseline blood flow velocity. ATACL exerted a pronounced effect on the endothelial antithrombotic function evident as decreases in aggregation degree by 99.3% ($p < 0.05$) and aggregation rate by 136.6% ($p < 0.05$) compared to the group of negative control. **Conclusion.** ATACL is of interest for further studies as an actoprotector with endothelium-protective activity.

Keywords: 4-hydroxy-3,5-di-tert-butyl cinnamic acid (ATACL); endothelium protectors; actoprotector; catechin hydrate; exhaustive physical exercise

For citation: Voronkov A.V., Gerashchenko A.D. Endothelium-protective properties of ATACL and catechin hydrate in exhaustive exercise of rat. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(2): 74-79. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.74-79

For correspondence: **Anastasia D. Gerashchenko;** lecture of the department of pharmacology with a course of clinical pharmacology Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –affiliate of the FSBEI HE «The Volgograd State Medical University» Ministry of Health of Russia

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Contribution: the concept and design of the study – Voronkov A.V., Gerashchenko A.D.; collection and processing of material, statistical processing, writing a text – Gerashchenko A.D.; editing – Voronkov A.V.

Information about the authors:

Voronkov A.V., <https://orcid.org/0000-0001-6638-6223>

Gerashchenko A.D., <https://orcid.org/0000-0003-0294-2926>

Received 18.10.2019

Accepted 20.04.2020

Published 28.05.2020

Введение

Эндотелий сосудов – является уникальным по своей природе и функциям орган ответственный за гомеостаз [1]. Известно, что на фоне истощающих физических нагрузок в организме возникают нарушения в регуляции сердечно-сосудистой системы [2–4], отмечается активация центральной симпатической системы, повышается частота сердечных сокращений, в результате чего ускоряется ламинарный ток крови и возрастает его повреждающее действие на эндотелий сосудов. Особенно страдают участки в местах разветвления сосудистого русла, что провоцирует развитие воспалительного процесса [5].

Развитие эндотелиальной дисфункции [2] в дальнейшем приводит к изменениям реологии крови, ухудшению эндотелий-зависимой дилатации, усугублению процесса воспаления сосудистой стенки и активации апоптоза [6–9]. Все это может способствовать нарушению микроциркуляторного кровотока в скелетной мышце, такого рода изменения снижают функциональный резерв [8, 9]. Поэтому поиск актопротекторных веществ [10 – 13], обладающих эндотелиопротекторным действием [4, 9, 14], является актуальной проблемой спортивной медицины и фармакологии.

Цель исследования – изучение эндотелиопротекторных свойств АТАСЛ и катехин гидрата в сравнении с известным лекарственным препаратом Сулодексид в условиях истощающих нагрузок у крыс.

Методика

Эксперимент выполнен на 50 крысах-самцах Wistar (200–220 г). Было сформировано 5 групп по 10 животных в каждой. Все производимые манипуляции с животными выполнялись в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (GLP) [15] и в соответствии с международными нормами экспериментальной этики (Strasbourg, 22 June, 1998). Работа одобрена этическим комитетом филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Крысы содержались в пластиковых клетках при естественном освещении и температуре 20–22 °С, с свободным доступом к корму и воде. Истощающую физическую нагрузку воспроизводили по известной методике – тест Порсолта (тест «отчаяния») в течение 10 сут [16]. Животных группы положительного контроля (ПК) подвергали физическим нагрузкам (ФН) по $n=3$, $n=3$ и $n=4$ животных ежедневно. Крысам экспериментальных групп вводили эндотелийпротекторные средства: 1) АТАСЛ (4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота, 100 мг/кг); 2) катехин гидрат (100 мг/кг) [17]; 3) препарат сравнения Сулодексид (30 единиц высвобождения липопропротеинлипазы – ЕВЛ) [8, 9]. Животных экспериментальных групп подвергали истощающим физическим нагрузкам ежедневно в течение 10 сут Группа негативного контроля (НК, без фармакологической коррекции) получала на всем протяжении эксперимента 0,9% раствор хлористого натрия в эквивалентном количестве. По истечении 10 сут оценивали вазоделяти-

рующую функцию эндотелия сосудов головного мозга методом доплерографии с использованием программного комплекса «Minimax Doppler» (1.7.), производства компании «Минимакс» (Санкт–Петербург, Россия). Оценку гемодинамики производили в проекции средней мозговой артерии в теменной области головного мозга животных. Правую теменную кость животного трепанировали, периодически охлаждая поверхность раствором 0,9% натрия хлорида. В качестве контактной среды использовали гель «Униагель».

Модификацию выброса эндогенного NO осуществляли посредством внутривенного введения соответствующих анализаторов: ацетилхолина (АЦХ), нитро-L-аргинина, метилового эфира (L-NAME) и L-аргинина. Агрегационную активность тромбоцитов оценивали на агрегометре «АЛАТ-2», методом G. Vogt в модификации Габбасова [18].

Для статистической обработки результатов использовали пакет программ «StatPlus 2009». Межгрупповые различия анализировали параметрическими и непараметрическими методами в зависимости от типа распределения. В качестве параметрического критерия использовали критерий Стьюдента, непараметрического – U-критерий Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Влияние изучаемых соединений на скорость кровотока в условиях длительных истощающих физических нагрузок. Группу животных положительного контроля под-

вергали дозированным ФН (без наступления истощения). Исходная скорость кровотока у крыс составляла $4,099 \pm 0,235$ см/с. У крыс, получавших Сулодексид, АТАСЛ и катехин гидрат: $3,892 \pm 0,367$ см/с, $4,217 \pm 0,165$ см/с, $3,953 \pm 0,391$ см/с соответственно. В ответ на введение АЦХ имело место статистически значимое изменение скорости кровотока (СК): в группе крыс положительного контроля на +42%; у животных, получавших Сулодексид, АТАСЛ и катехин гидрат — на +28%, +26,1%, +24,5% соответственно относительно исходного контроля. Введение АЦХ группе крыс НК значительно не изменяло скорость кровотока по отношению к исходным значениям (рис. 1).

Внутривенное введение L-NAME способствовало повышению скорости кровотока в группе ПК на 36,2% относительно исходного значения. На фоне применения Сулодексида, АТАСЛ и катехин гидрата наблюдалось снижение СК на 22,6%, 23,5% и 13,3% относительно первоначальной скорости кровотока у животных получавших соответственно Сулодексид, АТАСЛ и катехин гидрат. В группе животных негативного контроля СК при внутривенном введении L-NAME значительно не изменилась по отношению к первоначальным значениям. При этом реакция сосудов в ответ на введение ацетилхолина и нитро-L-аргинин метилового эфира у группы животных негативного контроля была слабее, чем в группе крыс положительного контроля на 296,2% и 168,1% соответственно.

В группе ПК на фоне введения L-аргинина СК статистически значимо не изменилась по сравнению

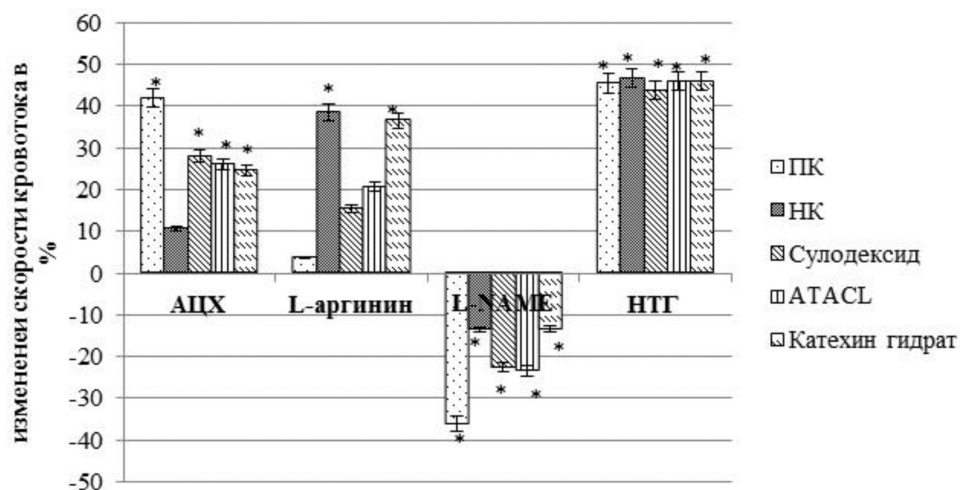


Рис. 1. Влияние АЦХ, L-аргинина, L-NAME, НТГ на изменение вазодилатирующей функции эндотелия сосудов крыс в условиях длительных истощающих физических нагрузок. * $p < 0,05$ - статистически значимые различия относительно фоновой скорости кровотока (критерий Крускал–Уоллиса).

с ее фоновым значением, в то время как в группе НК L-аргинин увеличивал СК на 38,5%, что может свидетельствовать о развитии у данной группы крыс «феномена L-аргининового парадокса». При внутривенном введении L-аргинина животным, которым вводили Сулодексид, СК увеличилась лишь на 15,4%, что было на 149,5% меньше аналогичного показателя в группе крыс НК. При введении L-аргинина животным, которые получали соединения АТАСЛ и катехин гидрат, СК увеличилась на 20,6% и на 36,7% соответственно по сравнению с первоначальной скоростью кровотока данных групп крыс.

Стоит отметить, что скорость кровотока при введении НТГ статистически значимо не различалась во всех группах крыс, подверженных длительным истощающим нагрузкам, а также значимо не отличалась от аналогичного показателя группы ПК (рис. 1).

Влияние изучаемых соединений на изменение агрегационной активности тромбоцитов в условиях длительных истощающих физических нагрузок у крыс. У группы животных ПК степень и скорость агрегации тромбоцитов составляли $12,08 \pm 1,18$ и $20,07 \pm 0,43$ отн. ед. соответственно. В условиях истощающих физических нагрузок у группы крыс негативного контроля наблюдалось увеличение степени агрегации и скорости агрегации тромбоцитов относительно группы ПК на 250% и 170,4% соответственно (рис. 2).

Степень агрегации тромбоцитов была ниже, относительно группы НК на 93% на фоне введения Сулодексида, на 99,3% и 80,3% при применении соединения АТАСЛ и катехин гидрата соответственно. Полученные данные свидетельствуют о стойких негативных изменениях в стенках сосудов у животных, что согласуется с данными литературы [14, 19]. Что касается скорости агрегации, она также снижалась у крыс, получавших Сулодексид, относительно аналогичного показателя группы негативного контроля на 165,5%. Это подтверждает полученные нами ранее данные [19]. У крыс, получавших АТАСЛ скорость агрегации снижалась на 136,6%, у крыс, получавших катехин гидрат, на 116,1%.

Заключение

После завершения цикла истощающих нагрузок у крыс развивалась эндотелиальная дисфункция с изменением антитромботического потенциала. Применение АТАСЛ и катехин гидрата способствовало восстановлению эндотелиальной функции у крыс. Наиболее выраженный эндотелиопротекторный эффект наблюдался в группе, получавшей АТАСЛ (100 мг/кг). Результат был сопоставим с аналогичным эффектом препарата Сулодексид. Соединение АТАСЛ представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве актопротекторного средства, обладающего эндотелиопротекторной активностью.

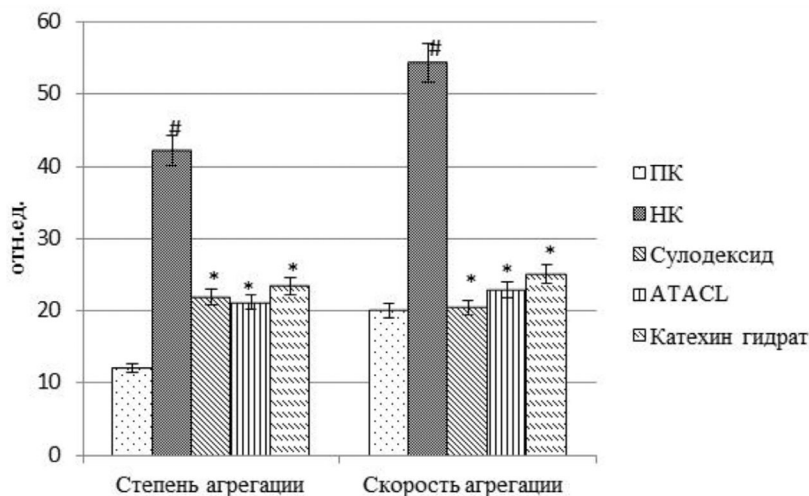


Рис. 2. Влияние АЦХ, L-аргинина, L-NAME, НТГ на изменение агрегационной активности тромбоцитов в условиях длительных истощающих физических нагрузок. # $p < 0,05$ – статистически значимые различия относительно показателей группы животных ПК (критерий Крускала–Уоллиса). * $p < 0,05$ – относительно животных НК группы (критерий Крускала–Уоллиса).

Литература

- Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J., Nishigaki Y., Sakthisekaran D., Sethi G. et al. The Vascular Endothelium and Human Diseases. *International Journal of Biological Sciences*. 2013; 9(10): 1057-69.
- Тюренков И.Н. Методический подход к оценке эндотелиальной дисфункции в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2008; 71(1): 49-51.
- Кулиненко О.С. *Фармакология спорта в таблицах и схемах*. М.: Советский спорт; 2011: 37.
- Дзугкоев С.Г., Можаяева И.В., Такоева Е.А., Дзугкоева Ф.С., Маргиева О.И. Механизмы развития эндотелиальной дисфункции и перспективы коррекции. *Фундаментальные исследования*. 2014; 1(4): 198-204.
- Duerrschmidt N., Stielow C., Muller G., Pagano P.J., Morawietz H. NO-mediated regulation of NAD(P)H oxidase by laminar shear stress in human endothelial cells. *J Physiol*. 2006; 15,576(Pt 2): 557-67.
- Чубуков Ю. А. Фактор Виллебранда и эндотелиальная дисфункция при стрессе. *Проблемы здоровья и экологии*. 2012; 2(32): 40-5.
- Воронков А.В., Тюренков И.Н., Слиецанс А.А., Муравьева Н.А. Влияние геспередина на скорость восстановления работоспособности и поведенческий статус животных на фоне интенсивных физических и психоэмоциональных нагрузок. *Научные ведомости БелГУ*. 2012; 20(22 (141)): 88-93.
- Воронков А.В., Муравьева Н.А. Исследование вазодилатирующей функции эндотелия в условиях экстремальных физических и психоэмоциональных нагрузок. *Вестник ВолГМУ*. 2013; 3(47): 100-2.
- Воронков А.В., Поздняков Д.И., Рыбалко А.Е. Влияние геспередина и нарингенина на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов на фоне ишемии головного мозга. *Успехи современной науки*. 2016; 2(7): 172-4.
- Серёгина Е.К., Фатихов И.М., Неволин Ю.С. Оценка фармакологической активности новых фармацевтических композиций, содержащих адаптогены, в условиях эксперимента. *Биомедицина*. 2011; 1(4): 126-8.
- Студенцов Е.П., Рамш С.М., Казурова Н.Г., Непорожнева О.В., Гарабаджиу А.В., Кочина Т.А. и др. Адаптогены и родственные группы лекарственных препаратов-50 лет поисков. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2013; 11(4): 3-43.
- Малахов В. А. Актопротекторы. *Новости медицины и фармации*. 2011; 1: 39-42.
- Oliynyk S., Oh S. Actoprotective effect of ginseng: improving mental and physical performance. *Journal of Ginseng Research*. 2013; 37(2): 144-66.
- Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В. Нарингин и апи-генин улучшают вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга экспериментальных животных на фоне его фокальной ишемии. *Вестник ВолГМУ*. 2016; 2(58): 111-4.
- Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая: М.: Гриф и К. 2012.
- Porsolt R.D., Anton G., Blavet N., Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. *Europ. J Pharmacol*. 1978; 47: 379-91.
- Воронков А. В., Абаев В. Т., Оганесян Э. Т., Поздняков Д.И. Изучение влияния субстанции АТАСЛ на физическое и психическое состояние животных в условиях длительных истощающих нагрузок. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 3: 628-35.
- Габбасов З. А. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов. *Лабораторное дело*; 1989; 10: 15-18.
- Воронков А.В., Геращенко А.Д., Воронкова М.П. Изучение вазодилатирующей и антитромботической функции комбинации соединений (atacl+катехин гидрат) на фоне истощающих физических нагрузок крыс. *Дневник казанской медицинской школы*. 2019; 1(23): 7-10.

References

- Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J., et al. The Vascular Endothelium and Human Diseases. *International Journal of Biological Sciences*. 2013; 9(10): 1057-69.
- Tyurenkov I.N. Methodical approach to the assessment of endothelial dysfunction in the experiment. *Ekspieriment'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2008; 71(1): 49-51. (In Russian)
- Kulinenkov O.S. *Sports pharmacology in tables and diagrams. [Farmakologiya sporta v tablitsakh i skhemakh]*. Moscow: Sovetskiy sport. 2011: 37. (In Russian)
- Dzugkoev S.G, Mozhaeva I.W, Takoyev E.A, Dzugkoeva F.S, Margieva O.I. Mechanisms of development of endothelial dysfunction and prospects for correction. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014; 1(4): 198-204. (In Russian)
- Duerrschmidt N., Stielow C., Muller G., Pagano P.J., Morawietz H. NO-mediated regulation of NAD(P)H oxidase by laminar shear stress in human endothelial cells. *J Physiol*. 2006; 15,576(Pt 2): 557-67.
- Chubukov J.A. Willebrand factor and endothelial dysfunction under stress. *Problemy zdorov'ya i ekologii*. 2012; 2(32): 40-5. (In Russian)
- Voronkov A.V., Tyurenkov I.N., Slyetsans A.A., Muravyova N.A. The influence of hesperidin on the speed of recovery and the behavioral status of animals against the background of intense physical and psycho-emotional stress. *Nauchnye vedomosti BelGU*. 2012; 22(141): 88-93. (In Russian)
- Voronkov A.V., Muravyova N.A. Study of the vasodilating function of the endothelium under conditions of extreme physical and psycho-emotional stress. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* 2013; 3(47): 100-2. (In Russian)
- Voronkov A.V., Pozdnyakov D.I., Rybalko A.E. Vliyanie gesperetina i naringenina na vazodilatorushchuyu funkciyu endoteliya sosudov na fone ishemii golovnogogo mozga. *Uspekhi sovremennoy nauki*. 2016; 2(7): 172-4. (In Russian)
- Seregina E.K, Fatihov I.M, Nevolin Yu. S. Evaluation of new pharmacological activity of a pharmaceutical composition comprising an adaptogen, in the experiment. *Biomeditsina*. 2011; 1(4): 126-8. (In Russian)
- Studentov E.P., Ramsh S.M., Kazurova N.G., Neporozhneva O.V., Garabadzhiu A.V., Kochina T.A. et al. Adaptogens and related groups of drugs - 50 years of searching. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2013; 11(4): 3-43. (In Russian)
- Malakhov V.A., Romeshvili E.S. Actoprotectors. *Novosti meditsiny i farmatsii*. 2011; 1: 39-42. (In Russian)
- Oliynyk S., Oh S. Actoprotective effect of ginseng: improving mental and physical performance. *Journal of Ginseng Research*. 2013; 37(2): 144-66.
- Voronkov A.V. Pozdnyakov D.I., Mamleev A.V. Narinigin and apigenin improve the vasodilating function of the endothelium of the cerebral vessels of experimental animals against the background of its

- focal ischemia. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2016; 2(58): 111-4. (In Russian)
15. Mironov A.N. *Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv]*. Chast' pervaya: Moskva. Grif i K. 2012: 15. (In Russian)
 16. Porsolt R.D., Anton G., Blavet N., Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. *Europ. J Pharmacol.* 1978; 47: 379-91.
 17. Voronkov A.V., Abaev V.T., Oganessian E.T., Pozdnyakov D.I. The study of the effect of ATACL substance on the physical and mental state of animals in conditions of prolonged exhausting loads. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 3: 628-30. (In Russian)
 18. Gabbasov Z.A. New highly sensitive method for analyzing platelet aggregation. *Laboratornoye delo*. 1989; 10: 15-8. (In Russian)
 19. Voronkov A.V., Gerashchenko A.D., Voronkova M.P. Study of vasodilating and antithrombotic function of a combination of compounds (atacl+catechin hydrate) against the background of debilitating physical exertion in rats. *Dnevnik kazanskoy meditsinskoy shkoly*. 2019; 1(23): 7-10. (In Russian)

Сведения об авторах:

Воронков Андрей Владиславович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. фармакологии с курсом клинической фармакологии;
Герашченко Анастасия Дмитриевна, преподаватель каф. фармакологии с курсом клинической фармакологии, e-mail: anastasia_gerashchenko@mail.ru