На правах рукописи

ПОЗДНЯКОВ ДМИТРИЙ ИГОРЕВИЧ

ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ И ФЛАВОНОИДОВ НА ФОНЕ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Волгоград – 2018

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент
Воронков Андрей Владиславович

Официальные оппоненты:

Воронина Татьяна Александровна, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова», заведующая лабораторией психофармакологии.
Покровский Михаил Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Институт экспериментальной медицины"

Защита состоится «____»_____2017 г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Автореферат разослан «____»_____2017г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
Доктор биологических наук Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Нарушения церебральной гемодинамики занимают одно из лидирующих мест среди причин смертности, первичной инвалидности и утраты трудоспособности населения, приобретая, тем самым, огромную медико-социальную значимость [Гусев Е.И., 2003; Гусев Е.И.,2013]. Несмотря на широкий спектр медицинских приемов и техник, основным подходом к лечению нарушений мозговой гемодинамики является фармакотерапия. Фармацевтический рынок на сегодняшний день представлен обширным списком препаратов для профилактики и терапии нарушений мозгового кровообращения [Козелкин А.А., 2015], в том числе и средствами растительного происхождения (препараты Ginkgo Biloba, Vinca Minor и т.д.), которые применяются в клинической практике [Zhang Y.B.. 2009; Jae. C.L., 2014]. Однако, арсенал лекарственных препаратов, в том числе и природного происхождения, для терапии цереброваскулярной патологии по эффективности и безопасности не в полной мере удовлетворяет потребности практикующих специалистов [Рябченко А.Ю.,2014; Zhang L.,2012]. В этой связи актуальным можно считать целенаправленный поиск новых терапевтических «мишеней» и фармакологически активных субстанций, способных оказать благоприятное влияние на уровень мозгового кровотока в условиях цереброваскулярной патологии с целью их дальнейшего внедрения в практическую деятельность.

Степень разработанности темы

Исследования последних лет показывают, что перспективной фармакотерапевтической «мишенью» для коррекции церебральной ишемии может являться эндотелий сосудов [Adachi U., 2015]. В настоящем установлено положительное эндотелиотропное действие лекарственных препаратов, принадлежащих к различным фармакотерапевтическим группам: ингибиторы АПФ, β-блокаторы, статины, фибраты, антагонисты кальция, тиазидные диуретики и т.д. Однако эндотелиопротекторный эффект данных препаратов является дополнительным, а высокоэффективных средств с доказанным (за исключением сулодексида) эндотелиотропным действием на сегодняшний день нет [Su J.B., 2015]. По литературным данным производные коричной кислоты и флавоноиды, обладают обширным спектром фармакологической активности, некоторые виды которой (антиоксидантный эффект, влияние на сигнальные системы клетки, антиапоптотическая активность) могут лежать в основе их эндотелийпозитивного влияния [Доркина Е.Г., 2010; Тараховский Ю.С., 2013; Rao P.V., 2014]. Таким образом,

представляется перспективным изучение производных коричной кислоты и флавоноидов с целью оценки их эндотелитропной активности в условиях нарушений церебральной гемодинамики.

Цель исследования

Провести комплексную оценку эндотелиопротекторной активности производных коричной кислоты и флавоноидов, и обосновать применение данных соединений для фармакотерапии нарушений мозгового кровообращения. Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести фармакологический скрининг в ряду производных коричной кислоты и флавоноидов, для выявления потенциального эндотелиопротекторного эффекта, с оценкой влияния исследуемых соединений на некоторые показатели вазодилатирующей и антитромботической функций сосудистого эндотелия. Определить соединение-лидер, провести оценку зависимости «доза-эффект» для соединения лидера.
2. Изучить влияние соединения-лидера на изменение вазодилатирующей, антитромботической и противовоспалительной функции сосудистого эндотелия на фоне ишемии головного мозга.
3. Изучить возможные механизмы эндотелиопротекторного действия соединения-лидера. Установить наличие дополнительной церебропротекторной активности.

Научная новизна исследования

Проведено изучение эндотелиопротекторного действия производных коричной кислоты и флавоноидов в условиях нарушения мозговой гемодинамики. Впервые изучено влияние курсового лечебного введения соединения 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота в эффективной дозе на состояние вазодилатирующей, антитромботической, противовоспалительной функций эндотелия сосудов в условиях фокальной ишемии головного мозга у крыс. Проанализировано влияние данного соединения на интенсивность образования свободных радикалов, процессы ПОЛ и активность ферментов эндогенной антиоксидантной защиты, ферментативные системы синтеза NO, специфические маркеры эндотелиальной дисфункции, а также его церебропротекторные свойства. Полученные в ходе исследования данные позволили оценить вещество как перспективный объект для дальнейшей разработки на его основе лекарственного препарата с эндотелиопротекторными свойствами для фармакотерапии нарушений мозгового кровообращения.

Методология исследования

В проведённом исследовании использовался комплексный подход к оценке эндотелиальной функции/дисфункции [Тюренков И.Н., 2008; Воронков А.В., 2011]. Ход исследования соответствовал этическим нормам работы с экспериментальными животными.

Исследование выполнено на современном уровне с использованием необходимого количества биологических моделей, адекватных поставленным задачам исследования, современных методов и оборудования.

Научно-практическая ценность и реализация результатов работы

Полученные результаты, свидетельствующие об эндотелиопротекторном действии 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты свидетельствуют о перспективности разработки на основе данного соединения средств, улучшающих мозговое кровообращение. Полученные в работе данные используются в учебном процессе на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ, а также при целенаправленном поиске и синтезе химических соединений, обладающих эндотелиопротекторным действием.

Положения выносимые на защиту

1. В ряду исследуемых соединений наиболее выраженным эндотелиопротекторным действием при ишемии головного мозга обладает производное коричной кислоты - 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота. Данное соединение сохраняет вазодилатирующую, антитромботическую, противовоспалительную функции эндотелия сосудов в условиях недостаточности мозгового кровообращения..

2. Механизм эндотелиопротекторного действия 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты опосредован снижением интенсивности ПОЛ, восстановлением активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты, повышением концентрации eNOS, снижением содержания iNOS, nNOS, MMP-1, PKC и ассиметричного диметиларгинина.

3. 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота оказывает церебропротекторное действие за счет повышения утилизации глюкозы тканью головного мозга, активности митохондриальной АТФ-синтетазы и цитохром с-оксидазы, снижения лактат-ацидоза и отека головного мозга.

Степень достоверности и апробация результатов

В работе использованы современные методы анализа и высокотехнологичное оборудование. В ходе проведения экспериментальной работы был получен значительный

объем статистически обработанных данных, что позволяет судить о степени достоверности полученных результатов. Основные положения диссертационного исследования были доложены на научных конференциях и симпозиумах: 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2016; V международной научно-практической конференции «Беликовские чтения», Пятигорск, 2016; III Международной научно-практической конференции «Актуальные аспекты экспериментальной и клинической фармакологии: от молекулы к лекарству», Пятигорск, 2017. По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, в том числе 14 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора

Автор принимал активное участие на всех этапах работы. Проведён анализ литературных данных по теме исследования, на основании чего были разработаны протоколы экспериментов, проведены необходимые исследования и дальнейшая обработка полученных результатов, которые отражены в научных публикациях.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 6 глав собственных исследований, обсуждения результатов, общих выводов, научно-практических рекомендаций и библиографического списка, включающего 214 источников, из них 66 отечественных и 148 зарубежных автора. Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, содержит таблиц – 14, рисунков –25.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **главе 1** представлен **обзор литературы**, в котором отражены медико-социальные аспекты нарушений мозгового кровообращения ишемического генеза, основные патофизиологические механизмы ишемии головного мозга, роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе ишемического повреждения головного мозга, а также ее взаимосвязь с основными элементами «ишемического каскада». Представлены основные группы препаратов, обладающие эндотелиопротекторной активностью, изложены потенциально возможные механизмы реализации их эндотелиотропных свойств.

В **главе 2** представлены **материалы и методы исследования**, использованные при выполнении диссертационной работы

Исследование выполнено на 530 крысах - самцах линии Wistar. Животные были получены из вивария Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ. Животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением требований Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Strasbourg, 22 June, 1998), а также Приказа МЗ РФ № 267 от 19.06.2003г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP), ГОСТ З 51000.3-96 и 51000.4-96.

Исследование выполнено в 3 этапа. На каждом из этапов экспериментальные группы формировались рандомизацией животных по возрасту (половозрелые) и весу (220-240 грамм). При этом первую группу животных составляли ложнооперированные крысы (Л/О), а вторую – животные группы негативного контроля (НК), у которых воспроизводили фокальную ишемию головного мозга методом коагуляции средней мозговой артерии.

На первом этапе исследования посредством оценки влияния исследуемых соединений на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов и агрегационную активность тромбоцитов (как составляющей антитромботической функции эндотелия) были изучены потенциальные эндотелиопротекторные свойства следующих веществ (этап фармакологического скрининга): 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота (ATACL); икариин; гесперетин; флоридзин; нарингенин; нарингин; патулетин; гесперидин; апигенин, коричная, кофейная, синаповая и р-кумаровая кислоты, которые были выделены на кафедре органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ под руководством профессора, д.ф.н. Оганесяна Э.Т. Структуры исследуемых веществ подтверждали методами тонкослойной и бумажной хроматографии, спектроскопией: ультрафиолетовой, инфракрасной, ядерного магнитного резонанса [Сивцева О.С., 2017]. Соединения катехин гидрат, морин гидрат и полифенолы зеленого чая (PGT) представляли собой коммерческие субстанции, производства Sigma-Aldrich (Германия). На этапе фармакологического скрининга исследуемые соединения вводились интрагастрально в дозе 100 мг/кг [Kumar S, et.al 2013., Wang, X, et.al. 2014] по истечении 3-х часов с момента оперативного вмешательства и ежедневно на протяжении 3-х дней.

На втором этапе оценивали зависимость «доза-эффект» соединения-лидера и производили углубленное изучение влияния соединения-лидера на стабильность работы NO-синтазной системы, показатели периферического сосудистого сопротивления и

эластичности сосудов; антитромботическую и противовоспалительную функции эндотелия сосудов.

В качестве препаратов сравнения на этапе фармакологического скрининга, а также на этапе углубленного изучения эндотелиопротекторного действия соединения-лидера выступали: сулодексид (Вессел Дуэ Ф, Alfa Wasserman, Италия) в дозе 30 ЕВЛ/кг [Воронков А.В. с соавт., 2015]; мексидол (Фармасофт, Россия) - 30 мг/кг [Корокин М.В. с соавт., 2009] и тиоктовая кислота («Октолипен», Фармстандарт-Лексредства, Россия) - 50 мг/кг [Кочкаров В.И. с соавт., 2014].

Вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов оценивали по изменению скорости мозгового кровотока в ответ на введение эндотелий-специфичных анализаторов: ацетилхолин (АЦХ) 0,1 мг/кг (Sigma-Aldrich, Германия), L-аргинин 150 мг/кг (Panreac, Испания), нитро-L—аргинин метиловый эфир (L-NAME) 15 мг/кг (Sigma-Aldrich, Германия). Эндотелий-независимую вазодилатацию оценивали по реакции сосудов на введение нитроглицерина (НТГ, Биомед, Россия) 0,007 мг/кг. Каждое последующее введение анализатора осуществляли после восстановления уровня мозгового кровотока. *Стабильность работы NO-синтазной системы* оценивали по изменению скорости мозгового кровотока в ответ на последовательное 10-ти кратное введение АЦХ в указанной дозе. Все используемые тест-системы вводились внутривенно в левую бедренную вену непосредственно в процессе регистрации кровотока. Дополнительно производили оценку степени изменения индексов периферического сосудистого сопротивления и эластичности сосудов (индекс Пурсело и индекс Гослинга).

Антитромботическую функцию эндотелия сосудов оценивали по изменению агрегационной активности тромбоцитов, параметров плазменного гемостаза, активности противосвертывающих систем и маркеров тромбообразования.

Анализ *агрегационной активности тромбоцитов* производили на анализаторе агрегации тромбоцитов «АЛАТ-2» (НПФ «БИОЛА», Россия), методом определения относительного среднего размера агрегатов [Габбасов З.А. с соавт., 1989]. В качестве индукторов агрегации использовали АДФ-5 мкМ, коллаген 1 - мг/мл и ристомицин - 15 мг/мл (все индукторы производства НПО «РЕНАМ»).

Состояние плазменного компонента гемостаза оценивали по изменению следующих показателей: *активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена,* определяемых хронометрическим методом с применением системы анализатора показателей гемостаза АПГ2-01 «МИНИЛАБ 701». Активность противосвертывающих систем *антитромбина-III* и

протеина С оценивали спектрофотометрическим и хронометрическим методами соответственно. Активность *фактора фон Виллебранда (FW)* и концентрацию *растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК)* определяли агглютинационным методом» (все наборы реактивов производства НПО «РЕНАМ»). Концентрацию *Д-Димеров* оценивали с применением стандартных реактивов производства VedaLab (Франция). *Артериальный тромбоз* воспроизводили по методике предложенной Kurz K.D [Kurz K.D, 1990]. *Продолжительность свертывания крови* определяли на механическом коагулографе «Н-334». *Количество тромбоцитов в крови* оценивали с использованием системы ветеринарного автоматического гематологического анализа BC 2800vet (Mindray).

Состояние ***противовоспалительной функции*** сосудистого эндотелия оценивали по изменению концентрации *С-реактивного белка* (наборы реактивов производства компании «Арбис+») и содержания лейкоцитов в крови (подсчет производили на гематологическом анализаторе BC 2800vet (Mindray)).

На третьем этапе осуществляли оценку потенциально возможных механизмов эндотелиопротекторного действия соединения-лидера, а также оценку его церебропротекторных свойств в условиях церебральной ишемии у крыс.

Оценивая потенциально возможные механизмы реализации эндотелиопротекторного действия соединения-лидера, нами было изучено его влияние на активность антиоксидантных ферментов: каталазы [Королюк М.А., 1988], супероксиддисмутазы [Чумаков В.Н.,1977] глутатионпероксидазы [Pierce S., 1978] в супернатанте головного мозга; концентрации перекисных продуктов: диеновых конъюгатов, и ТБК-активных продуктов (в пересчете на малоновый диальдегид) [Стальная И.Д., 1977] в гомогенате головного мозга. *Антирадикальную активность* соединения-лидера определяли по торможению образования нитрозил-радикала (в реакции с реактивом Грисса) и супероксид-радикала [Winterbourn C.C, 1975], а также оценивали Fe^{2+}-хелатирующую активность соединения-лидера [Benzie I.F., 1996]. Препаратами сравнения служили: мексидол (Фармасофт, Россия) - 30 мг/кг и тиоктовая кислота («Октолипен», Фармстандарт-Лексредства, Россия) - 50 мг/кг.

Церебропротекторые свойства соединения-лидера оценивали по изменению потребления глюкозы тканью головного мозга, концентрации лактата в сыворотке крови (набор реактивов производства компании «Арбис+»), выраженности гидратации мозговой ткани (метод высушивания) и путем оценки величины зоны некроза паренхимы мозга (трифенилтетразолиевый метод).

Церебропротекторная активность соединения-лидера оценивалась в сравнении с мексидолом (Фармасофт, Россия) - 30 мг/кг, тиоктовой кислотой («Октолипен», Фармстандарт-Лексредства, Россия) - 50 мг/кг, винпоцетином (кавинтон, Гедеон Рихтер, Венгрия) - 3,2 мг/кг [Назарова Л.Е., 2011]. В качестве растворителя использовали бидистиллированную воду.

Учитывая значительный вклад NO-синтазной системы в реализацию эндотелиопротекторных свойств фармакологически активных веществ, нами было оценено влияние соединения-лидера на концентрацию изоферментов синтазы оксида азота (eNOS, iNOS, nNOS), а также на концентрацию ряда маркеров развития эндотелиальной дисфункции (*ассиметричного диметиларгинина* (ADMA), *протеинкиназы С* (РКС)). Также нами было изучено влияние соединения-лидера на изменение концентрации *тромбоксана* A_2 ($ТХА_2$) – как составляющей антитромботической функции эндотелия, *матриксной металлопротеиназы-1* (MMP-1) – как составляющей противовоспалительной функции эндотелия сосудов, *митохондриальной АТФ-синтетазы* (мАТФ) и *цитохром с-оксидазы* (COX) – как комплексов, характеризующих состояние митохондриальной функции (составляющая церебропротекторной активности). Описанные выше показатели определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (реактивы производства *Cloud Clone Corp.* (США). Считывание результатов производили на микропланшетном ридере Infinite F50 (Tecan, Австрия).

Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась с применением параметрического t–критерия Стьюдента, непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Проверку данных на нормальность распределения производили с применением критерия Шапиро-Уилка. В работе использовали пакет прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows) и Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Глава 3. Влияние исследуемых соединений на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов и агрегационную активность тромбоцитов в условиях фокальной ишемии головного мозга (фармакологический скрининг). В ходе проведенного исследования установлено, что в условиях фокальной ишемии головного мозга у группы животных негативного контроля (НК) по сравнению с ложнооперированными (Л/О) крысами отмечено ухудшение вазодилатирующей функции эндотелия сосудов, выражаемое в снижении сосудистой реакции в ответ на внутривенное введение АЦХ и L-

NAME, развитие феномена «L-аргининового парадокса». У НК группы крыс наблюдалось ухудшение антитромботической функции эндотелия сосудов, что нашло отражение в повышении степени и скорости агрегации тромбоцитов относительно Л/О группы животных на 70% (p<0,05) и 195,8% (p<0,02) соответственно (табл.2). Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях фокальной ишемии головного мозга у крыс наблюдается ухудшение эндотелиальной функции [Тюренков И.Н. с соавт., 2012].

Таблица 1

Изменение скорости мозгового кровотока при введении эндотелий-специфичных анализаторов в условиях фокальной церебральной ишемии у крыс и ее коррекции препаратами сравнения и исследуемыми соединениями

Группа	АЦХ	L-аргинин	L-NAME	НТГ
Л/О	48,7±1,030*	-2,2±0,430	-23,1±1,235Δ	54,6±0,592*
НК	12,0±1,670α	33,1±5,482 Δ α	-11,4±0,669 α	55,9±2,167*
Сулодексид	25,6±1,062 Δ α	18,3±1,664 αμ	-23,1±1,846 Δ	52,3±1,428*
Мексидол	21,1±2,407 Δ α	31,2±3,920 Δ α	-12,8±2,805	55,1±1,018*
Тиоктовая кислота	23,3±4,273 Δ α	17,6±6,588	-16,8±2,068 Δμ	58,4±0,594*
ATACL	32,9±2,551 Δμ	13,8±2,256μ	-17,4±1,072 Δ	51,1±0,866*
PGT	24,4±5,817 Δ	15,5±5,154μ	-15,9±3,697	55,1±5,576*
Апигенин	22,2±1,948 Δ	27,1±4,013 Δ	-12,1±1,742	53,9±3,034*
Катехин гидрат	20,8±6,683 Δ	21,3±5,188 Δ	-12,9±6,410	49,6±5,881*
Гесперидин	20,3±1,677 Δ	29,0±10,382 Δ	-12,8±3,828	52,3±1,368*
Патулетин	19,9±2,409 Δ	20,7±3,692 Δ	-16,2±4,149	50,2±1,327*
Морин гидрат	18,1±2,67 Δ	20,8±1,096 Δ	-11,4±3,061	54,7±1,023*
Нарингин	16,5±6,848	31,4±4,716 Δ	-13,0±4,435	54,7±4,435*
Нарингенин	16,2±1,930	23,2±1,680 Δ	-9,6±2,048	52,3±1,210*
Флоридзин	16,0±4,512	26,3±7,189 Δ	-8,4±3,129	58,6±1,214*
Гесперетин	13,7±3,766	31,3±3,209 Δ	-8,1±1,347	55,4±1,042*
Икариин	8,8±2,868	34,4±8,88 Δ	-4,7±2,166	52,8±1,067*
Кумаровая кислота	21,6±1,814 Δ	30,9±0,697 Δ	-13,6±1,714	52,7±0,801*
Кофейная кислота	22,3±1,167 Δ	35,2±2,102 Δ	-7,0±5,442	48,8±0,804*
Синаповая кислота	22,4±1,669 Δ	32,3±0,811 Δ	-13,3±0,566	49,9±1,754*
Коричная Кислота	15,4±1,039	33,3±1,686 Δ	-8,6±0,979	53,34±1,137*

Примечание: статистически значимо относительно фоновой скорости кровотока (t-критерий Стьюдента *- p<0,01; Δ-p<0,05);

α - статистически значимо относительно Л/О группы животных (t-критерий Стьюдента, p<0,05);

μ - статистически значимо относительно НК группы животных (t – критерий Стьюдента, p<0,05).

Введение препаратов сравнения позволило сохранить эндотелиальную функцию в условиях фокальной ишемии головного мозга у крыс. При этом наиболее благоприятное влияние на состояние вазодилатирующей (табл.1) и антитромботической (табл.2) функций эндотелия сосудов оказало введение крысам сулодексида. В то же время мексидол оказал более выраженное влияние на агрегационную активность тромбоцитов, а тиоктовая кислота - на вазодилатирующую функцию сосудистого эндотелия. Применение изучаемых соединений оказало неоднозначное действие на состояние эндотелия сосудов. Так наиболее благоприятное влияние на состояние вазомоторной функции эндотелия сосудов оказали следующие соединения: ATACL, полифенолы зеленого чая, апигенин, катехин гидрат, гесперидин и патулетин. При этом по величине эффекта соединение ATACL практически в равновесной степени соответствовало эффекту сулодексида и превосходило мексидол и тиоктовую кислоту. В целом по влиянию на вазодилатационный потенциал сосудистого эндотелия препараты сравнения и изучаемые соединения можно расположить в следующий ряд активности: ATACL ≥ сулодексид > PGT ≥ апигенин > мексидол ≥ кумаровая кислота ≥ кофейная кислота ≥ синаповая кислота ≥ катехин гидрат ≥ гесперидин ≥ патулетин > морин гидрат >нарингин > нарингенин > флоридзин ≥ коричная кислота > гесперетин > икариин.

Влияние исследуемых соединений на агрегационную активность тромбоцитов (табл.2) было сопоставимо с данными, полученными при оценке вазодилатирующей функции эндотелия. Так, агрегационная активность тромбоцитов более всего снизилась (относительно НК группы крыс) при применении соединения ATACL.

По совокупной величине влияния на агрегационную активность тромбоцитов в условиях фокальной церебральной ишемии препараты сравнения и исследуемые соединения позволяют сгенерировать ряд активности: сулодексид > мексидол ≥ ATACL ≥ PGT > апигенин > нарингин > тиоктовая кислота > патулетин > гесперидин > морин гидрат > катехин гидрат > нарингенин > кофейная кислота ≥ кумаровая кислота ≥ коричная кислота ≥ синаповая кислота ≥ икариин > гесперетин > флоридзин.

Таблица 2

Влияние исследуемых соединений и препаратов сравнения на агрегационную активность тромбоцитов в условиях фокальной церебральной ишемии у крыс

Группа	Степень агрегации (усл.ед.)	Скорость агрегации (усл.ед.)
Л/О	1,536±0,129	0,993±0,169
НК	2,613±0,382α	2,937±1,056#
Сулодексид	1,842±0,407*	1,681±0,532*
Мексидол	1,805±0,297*	1,772±0,235*
Тиоктовая кислота	2,011±0,447*	1,859±0,374*
ATACL	1,668±0,148*	1,922±0,098*
PGT	2,020±0,369*	1,536±0,415*
Апигенин	1,994±0,241*	1,616±0,163*
Катехин гидрат	2,195±0,211*	1,934±0,561*
Гесперидин	2,036±0,370*	1,706±0,431*
Патулетин	2,015±0,268*	2,116±0,406
Морин гидрат	2,028±0,243*	1,828±0,363*
Нарингин	1,842±0,253*	2,103±0,592
Нарингенин	2,385±0,254	1,936±0,362*
Флоридзин	2,764±0,581	3,377±0,521
Гесперетин	2,685±0,215	2,722±0,327
Икариин	2,516±0,181	2,500±0,423
Кумаровая кислота	2,282±0,217*	2,067±0,159*
Кофейная кислота	2,110±0,227*	1,821±0,317*
Синаповая кислота	2,550±0,214	2,550±0,264
Коричная кислота	2,471±0,271	2,250±0,147

Примечание: α- статистически значимо относительно Л/О группы животных (t-критерий Стьюдента, $p<0,05$);

- статистически значимо относительно Л/О группы животных (U-критерий Манна – Уитни, $p<0,02$);

* - статистически значимо относительно НК группы животных (t-критерий Стьюдента, $p<0,05$).

Анализируя полученные данные, в качестве соединения-лидера для проведения дальнейших исследований нами было выбрано соединение ATACL.

Глава 4. Изучение зависимости «доза-эффект» соединения 4-гидрокси-3,5 –ди-трет-бутилкоричная кислота. Изучение зависимости «доза-эффект» для соединения ATACL проводилось в 3-х вариантах дозирования (50 мг/кг, 100 мг/кг и 200 мг/кг) путем оценки изменения вазодилатирующей функции сосудистого эндотелия (рис.1), агрегационной активности тромбоцитов (рис.2) и концентрации С-реактивного белка (рис.3) у крыс в условиях фокальной ишемии головного мозга.

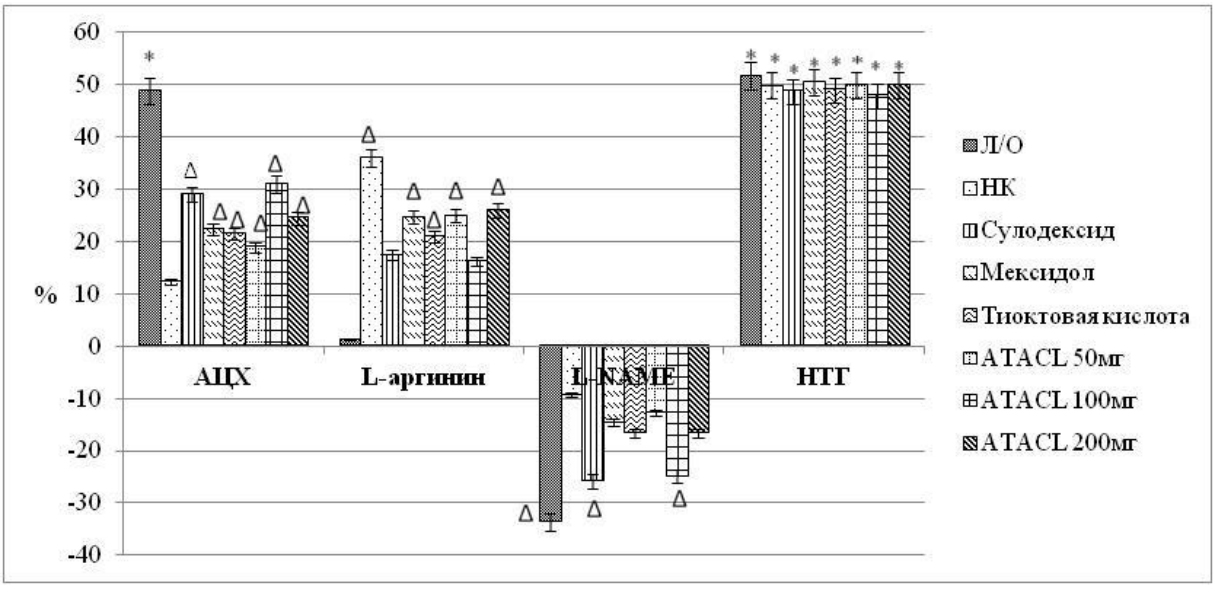

Рисунок 1. Влияние различных доз соединения ATACL на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов в условиях фокальной церебральной ишемии у крыс.

Обозначение: статистически значимо (t-критерий Стьюдента) относительно исходной скорости кровотока * - p<0,01; Δ - p<0,05.

Оценивая изменение вазодилатирующей функции эндотелия сосудов (рис.1) у крыс в условиях фокальной ишемии головного мозга, установлено, что соединение ATACL оказало наиболее благоприятное влияние на вазомоторный потенциал сосудистого эндотелия в дозе 100 мг/кг, поскольку применение соединения ATACL в данной дозе (по сравнению с другими вариантами дозирования) способствовало более значимому восстановлению вазореактивности к АЦХ и L-NAME, а также меньшему проявлению феномена «L-аргининового парадокса».

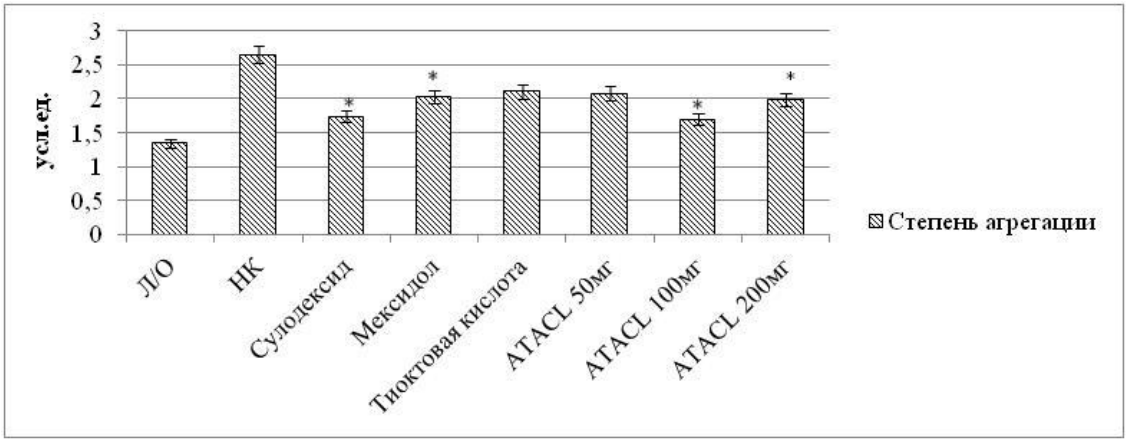

Рисунок 2. Влияние введения различных доз соединения ATACL на агрегационную активность тромбоцитов в условиях фокальной церебральной ишемии.

Обозначение: *- статистически значимо относительно НК группы животных (U-критерий Манна-Уитни, p<0,05).

Агрегационная активность тромбоцитов также наиболее значимо изменилась при применении соединения ATACL в дозе 100 мг/кг, что отражается в уменьшении степени АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению с НК группой крыс на 56,4% ($p<0,05$), в то время как введение крысам ATACL в дозах 50 мг/кг и 200 мг/кг способствовало снижению данного показателя на 27,8% и 33,3% ($p<0,05$) соответственно.

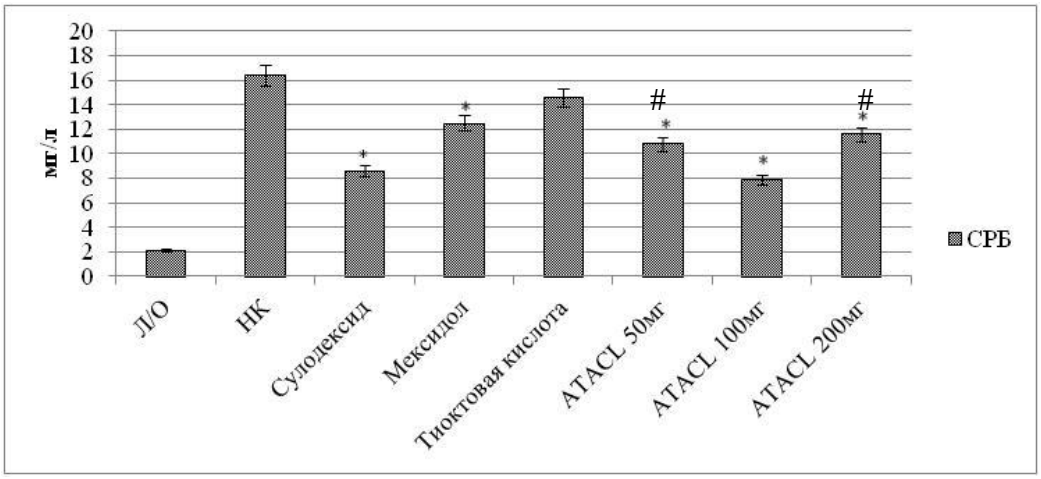

Рисунок 3. Влияние различных доз соединения ATACL на концентрацию С-реактивного белка в условиях фокальной церебральной ишемии у крыс.
Обозначение: *- статистически значимо относительно группы НК животных (t-критерий Стьюдента, $p<0,05$).
- статистически значимо относительно группы животных, получавших соединение ATACL в дозе 100 мг/кг (t-критерий Стьюдента, $p<0,05$).

Введение крысам соединения ATACL в дозе 100 мг/кг способствовало более значимому, по сравнению с другими вариантами дозирования, снижению концентрации С-реактивного белка (рис.3).

Исходя из полученных данных для проведения дальнейших исследований была выбрана доза соединения ATACL – 100 мг/кг, поскольку при введении животным данной дозы соединения-лидера был получен наиболее выраженный эндотелиотропный эффект, сопоставимый с эффектом сулодексида.

В **пятой главе «Влияние 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты и препаратов сравнения на стабильность работы NO-синтазной системы и показатели периферического сосудистого сопротивления и эластичности сосудов у крыс на фоне фокальной ишемии головного мозга»** отражены данные, свидетельствующие о том, что в условиях церебральной ишемии у крыс соединение ATACL в дозе 100 мг/кг способствовало стабилизации работы NO-синтазной системы, что выражалось в относительном постоянстве сосудистой реакции в ответ на последовательное 10-ти кратное введение АЦХ (рис.4).

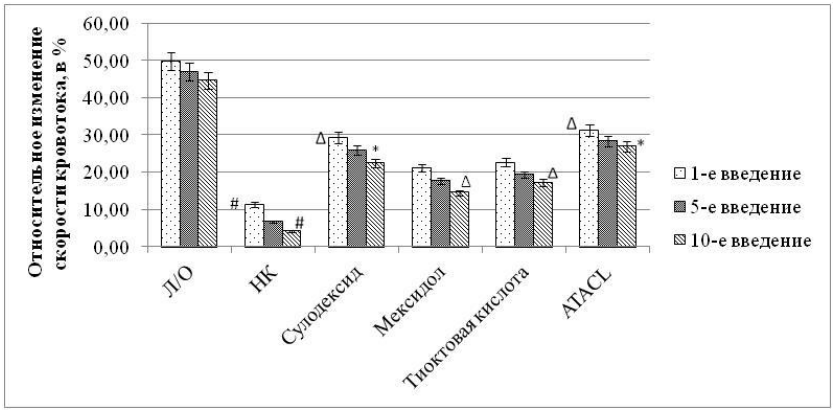

Рисунок 4. Влияние соединения ATACL и препаратов сравнения на стабильность работы NO-синтазной системы на фоне фокальной ишемии головного мозга у крыс.

Обозначение: статистически значимо (t-критерий Стьюдента) относительно НК группы крыс* - p<0,02; Δ -p<0,05;

#- статистически значимо относительно Л/О группы крыс (t-критерий Стьюдента, p<0,02).

Кроме того, введение крысам соединения ATACL способствовало снижению значения индексов Пурсело и Гослинга, по отношению к группе животных НК. На фоне применения соединения ATACL индексы PI и RI были ниже, относительно групп животных, которым вводили мексидол и тиоктовую кислоту, и статистически достоверно не отличались от показателей Л/О группы животных и крыс, получавших сулодексид (рис.5).

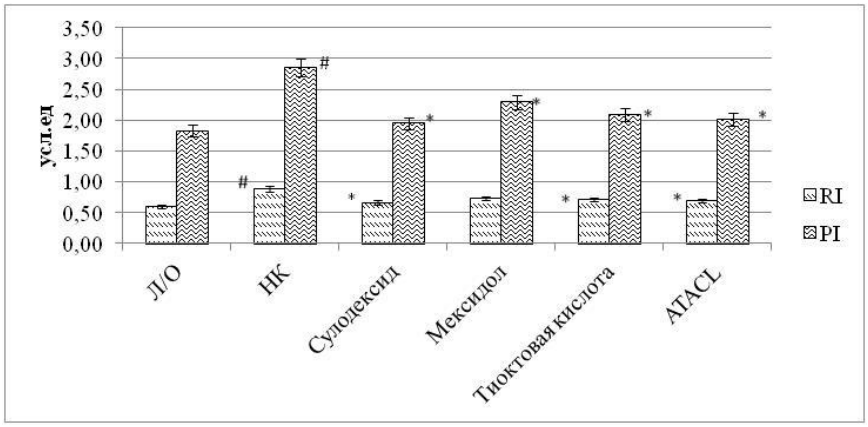

Рисунок 5. Влияние соединения ATACL и препаратов сравнения на значения индексов Пурсело и Гослинга в условиях фокальной церебральной ишемии у крыс.

Обозначение: RI – индекс Пурсело; PI – индекс Гослинга

* - статистически значимо относительно НК группы крыс (t-критерий Стьюдента, p<0,05);

#- статистически значимо относительно Л/О группы крыс (t-критерий Стьюдента, p<0,05).

Глава 6. Влияние 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты и препаратов сравнения на антитромботическую функцию сосудистого эндотелия в условиях фокальной церебральной ишемии. Применение соединения ATACL в условиях фокальной ишемии головного мозга у крыс способствовало снижению степени и скорости агрегации тромбоцитов на моделях АДФ-, коллаген (рис.6)– и ристомицин (рис.7)-индуцированной агрегации по отношению к животными НК группы, превосходя при этом по величине антиагрегантного действия мексидол и тиоктовую кислоту, приближаясь к эффекту сулодексида.

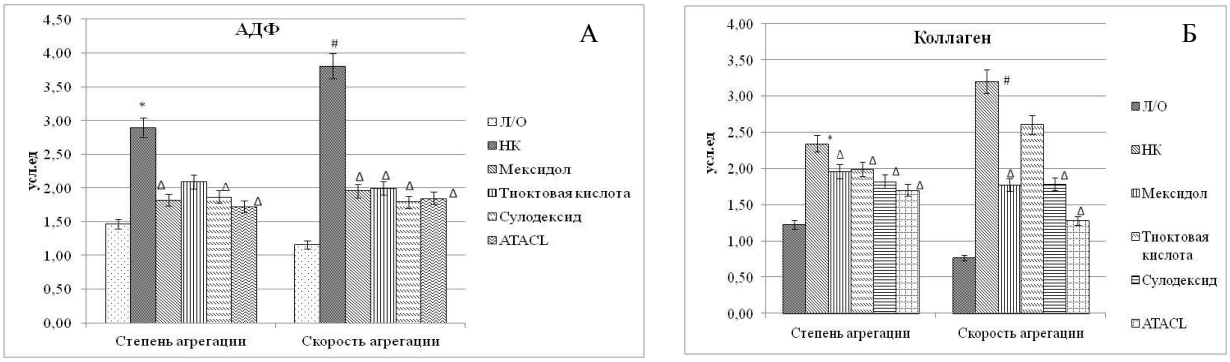

Рисунок 6. Изменение параметров АДФ (А)- и коллаген (Б) - индуцированной агрегации тромбоцитов в условиях коррекции фокальной церебральной ишемии соединением ATACL и препаратами сравнения у крыс.

Обозначение: статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно Л/О группы крыс # - p<0,02; * - p<0,05;

Δ - статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно НК группы крыс (p<0,05).

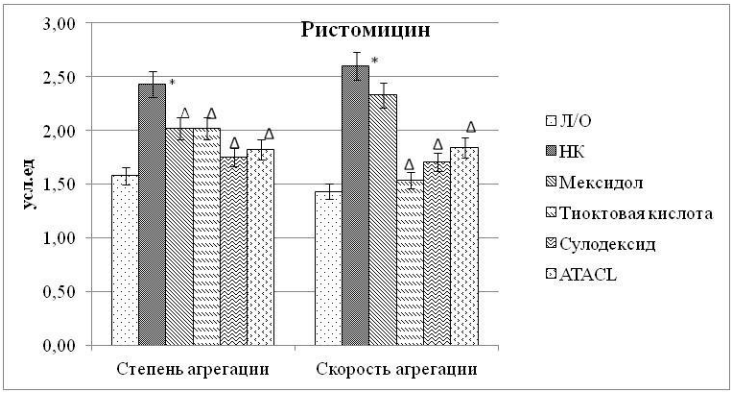

Рисунок 7. Изменение параметров ристомицин-индуцированной агрегации тромбоцитов в условиях коррекции фокальной церебральной ишемии соединением ATACL и препаратами сравнения у крыс.

Обозначение: * - статистически значимо относительно Л/О группы крыс (U-критерий Манна-Уитни, p<0,05);

Δ - статистически значимо относительно НК группы крыс (U-критерий Манна-Уитни, p<0,05).

На фоне применения соединения ATACL отмечена нормализация показателей АЧТВ, ТВ. Кроме того, на фоне введения крысам соединения ATACL наблюдалось снижение концентрации Д-Димеров, РФМК, активности фактора Виллебранда, а также восстановление активности противосвертывающих систем антитромбина-III и протеина С (табл.3).

Таблица 3

Влияние соединения ATACL на изменение параметров антитромботической функции эндотелия сосудов на фоне фокальной ишемии головного мозга у крыс

Показатель	ЛО	НК	Мексидол	Тиоктовая кислота	Сулодексид	ATACL
РФМК, *10^{-2} г/л*	5,1± 0,153	23,4± 3,363#	20,8± 1,53	18± 2,522*	6,6± 0,485*	9,8± 1,737*
FW, *%*	93,4± 1,077	135,8± 1,2#	127± 3,114	125,2± 2764	110,4± 5,144*	112,8± 4,841*
Д - димеры, *нг/мл*	203,8± 1,594	408,8± 3,76#	345± 18,333*	359,8± 13,822*	300,6± 9,501*	274,2± 8,794*
АТ-III, *%*	102± 4,848	61,2± 4,63#	74± 3,564*	61,2± 4,81	95,6± 7,966*	90,6± 5,105*
АЧТВ, *сек*	32,7± 0,902	19,8± 2,559#	21,1± 1,743	20,9± 1,344	30,3± 0,68*	27,8± 1,427*
Фибриноген, *г/л*	1,53± 0,123	5,31± 0,408#	4,09± 0,606*	4,26± 0,69*	3,16± 0,276*	3,06± 0,51*
ТВ, *сек*	18,9± 1,267	8,48± 1,39#	10,9 ± 1,042	10,6± 0,573	13,5± 0,751*	13,8± 1,382*
НО, *усл.ед*	1,01± 0,007	0,77± 0,06#	0,8± 0,01	0,85± 0,03	0,9± 0,234*	0,93± 0,019*

Примечание: * - статистически значимо относительно группы животных негативного контроля ($p<0,05$);

- статистически значимо относительно Л/О группы крыс ($p<0,05$).

Скорость образования тромба (рис.8) при аппликации на адвентицию сонной артерии хлорида железа (III) у животных НК группы превышала аналогичное значение ложнооперированных животных в 1,53 раза, в то время как применение соединения ATACL способствовало уменьшению данного показателя (относительно НК группы крыс) практически в равной с сулодексидом степени, превосходя эффект, наблюдаемый при введении мексидола и тиоктовой кислоты. Продолжительность свертывания крови при применении соединения ATACL статистически значимо не отличалась от значения ложнооперированных животных

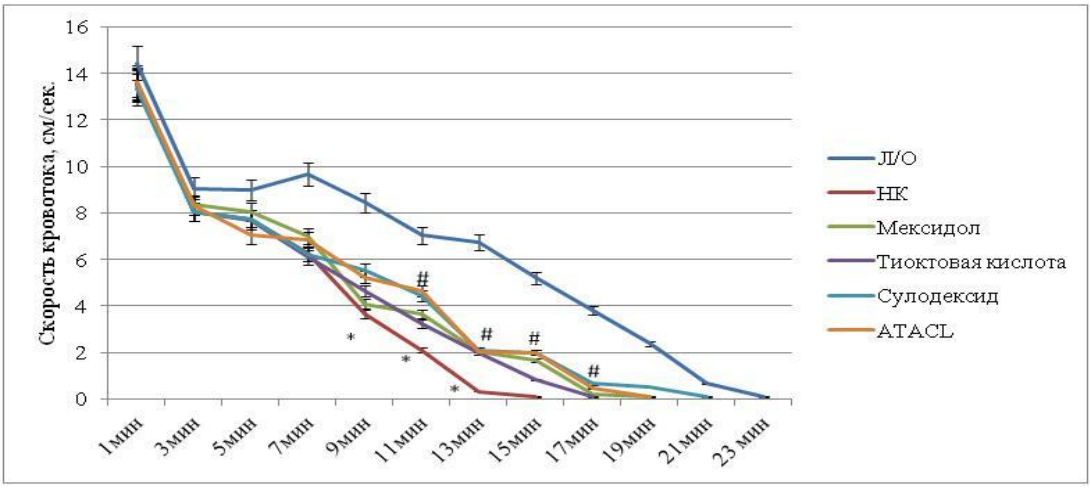

Рисунок 8. Влияние соединения ATACL и препаратов сравнения на скорость тромбообразования в сонной артерии у крыс на фоне фокальной ишемии головного мозга.

Обозначение: * - статистически значимо относительно Л/О группы животных (U-критерий Манна-Уитни, $p<0,05$);

- статистически значимо относительно НК группы животных (U-критерий Манна-Уитни, $p<0,05$)

Оценивая полученные данные можно предположить, что применение соединения ATACL, способствовало сохранению антитромботической функции сосудистого эндотелия у крыс на фоне ишемии головного мозга. При этом введение соединения ATACL практически в равной с сулодексидом степени способствовало устранению явлений гиперагрегации и гиперкоагуляции в условиях ишемии головного мозга. Кроме того, фармакологический эффект от применения соединения ATACL превосходил таковой от применения мексидола и тиоктовой кислоты.

Глава 7. Оценка влияния 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты на противовоспалительную функцию эндотелия сосудов в условиях фокальной церебральной ишемии. Применение соединения ATACL в условиях церебральной ишемии у крыс способствовало снижению концентрации С-реактивного белка, а также уменьшению выраженности лейкоцитоза по сравнению с животными НК группы. При этом концентрация С-реактивного белка на фоне введения соединения ATACL была сопоставима с аналогичным значением у групп крыс, получавших мексидол и сулодексид, а содержание лейкоцитов в крови статистически значимо не отличалось от ложнооперированных животных (табл.4).

Таблица 4

Изменение концентрации С-реактивного белка и содержания лейкоцитов в крови у крыс при применении соединения ATACL и препаратов сравнения в условиях фокальной ишемии головного мозга

Группа	ЛО	НК	Сулодексид	Мексидол	Тиоктовая кислота	ATACL
СРБ, мг/л	2,23± 0,228	13,92± 1,125Δ	7,46± 0,527*	8,41± 0,743*	11,21± 1,261	6,99± 0,446*
WBC, 10^9кл/л	8,26± 1,325	11,16± 1,178Δ	7,34± 0,998*	6,88± 0,959*	8,24± 0,928*	6,92± 0,817*

Примечание: СРБ – С-реактивный белок

Δ - статистически значимо (t-критерий Стьюдента) относительно Л/О группы крыс (p<0,05);

* - статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно НК группы крыс (p<0,05).

Глава 8. Оценка потенциальных механизмов реализации эндотелиопротекторного действия 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты. В ходе проведения данного блока исследований установлено, что соединение ATACL в условиях ишемии головного мозга способствовало сохранению активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты, снижению интенсивности перекисного окисления липидов, что выражалось в повышении активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и снижении образования диеновых конъюгатов, ТБК-активных продуктов (малонового диальдегида), относительно группы животных негативного контроля. При этом антиоксидантное действие соединения ATACL было сопоставимо с мексидолом (табл.5).

Таблица 5

Влияние соединения ATACL на интенсивность ПОЛ и активность ферментов эндогенной антиоксидантной защиты в условиях ишемии головного мозга у крыс

Показатель	Л/О	НК	Мексидол	Тиоктовая Кислота	ATACL
МДА, нмоль /мг белка	9,94± 1,117	24,42± 2,296*	14,36± 1,328Δ	17,26± 2,122α	16± 1,627α
ДК, нмоль /мг белка	8,12± 2,097	22,64± 4,182#	13,37± 4,891Δ	16,98± 6,743	12,01± 2,982α
СОД, ед.акт/мг белка	356,53± 99,112	17,52± 11,518#	340,68± 11,667Δ	134,59± 76,583	315,4± 99,996α
ГП, NADPH//мин/мг белка	557,2± 82,639	87,28± 13,203#	342,81± 65,175Δ	198,38± 40,591α	360,33± 20,395Δ
Каталаза, Нмоль H_2O_2/мин/мг	0,785± 0,25	0,11± 0,028#	0,38± 0,102Δ	0,21± 0,107α	0,27± 0,031α

Примечание: статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно Л/О группы крыс: * -p<0,01; # -p<0,05;

статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно НК группы крыс: Δ -p<0,02; α - p<0,05.

Кроме того, соединение ATACL практически в равной степени с мексидолом терминировало генерацию свободных радикалов (NO* и O_2^{-*}), проявляя тем самым антирадикальные свойства. По Fe^{2+}-хелатирующим свойствам изучаемое соединение ATACL также не уступало мексидолу.

Введение крысам соединения ATACL способствовало снижению концентрации ADMA, PKC, MMP1, iNOS, nNOS, а также повышению содержания eNOS (табл.6) по сравнению с НК группой животных. При этом по воздействию на некоторые ферментативные системы, обеспечивающие адекватное функционирование сосудистого эндотелия и концентрацию специфических маркеров ЭД, соединение ATACL превосходит препараты сравнения мексидол, тиоктовую кислоту и сулодексид (табл.6).

Таблица 6

Влияние соединения ATACL и препаратов сравнения на некоторые параметры, характеризующие состояние эндотелиальной функции у крыс на фоне фокальной ишемии головного мозга

Группа	ЛО	НК	Мексидол	Тиоктовая Кислота	Сулодексид	ATACL
ADMA нг/мл	34,9± 0,029	68,4± 0,052#	49± 0,045*	48,3± 0,074*	45,2± 0,041*	37,2± 0,036*
nNOS нг/мл	16,7± 0,013	27,3± 0,045#	23,8± 0,012	18,4± 0,056*	12± 0,011*	17± 0,027*
iNOS нг/мл	13± 0,008	17± 0,003#	12,2± 0,013*	13,4± 0,006*	10,1± 0,006*	10,5± 0,002*
eNOS пг/мл	77,9± 0,088	47,1± 0,065#	53,6± 0,069	57,3± 0,048	60,7± 0,095*	100,9± 0,022*α
PKC нг/мл	49,08± 9,794	137,2± 26,138#	65,5± 2,79*	74,63± 22,875*	57,34± 3,716*	65,76± 6,824*
MMP1 нг/мл	24,17± 1,297	35,06± 5,919#	28,86± 2,315	32,11± 0,025	24,67± 2,604*	25,47± 2,498*
TXA_2 нг/мл	10,95± 2,258	43,97± 12,999#	14,85± 1,55*	25,65± 5,886*	14,77± 1,64*	12,86± 1,004*

Примечание: # - статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно Л/О группы животных ($p<0,05$);

*- статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно НК группы животных ($p<0,05$).

α - статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно группы животных, получавших сулодексид ($p<0,05$).

Положительное влияние соединение ATACL на антитромботическую функцию эндотелия сосудов может быть связано с уменьшением образование тромбоксана A_2, а восстановление противовоспалительного потенциала эндотелия со снижением концентрации матриксной металлопротеиназы-1 (табл.6).

Конечным результатом восстановления эндотелиальной функции может являться сохранение нейрональной целостности, отражающее церебропротекторные свойства. Так введение соединения ATACL способствовало уменьшению выраженности лактат-ацидоза и повышению уровня утилизации глюкозы головным мозгом в условиях фокальной церебральной ишемии (рис.9).

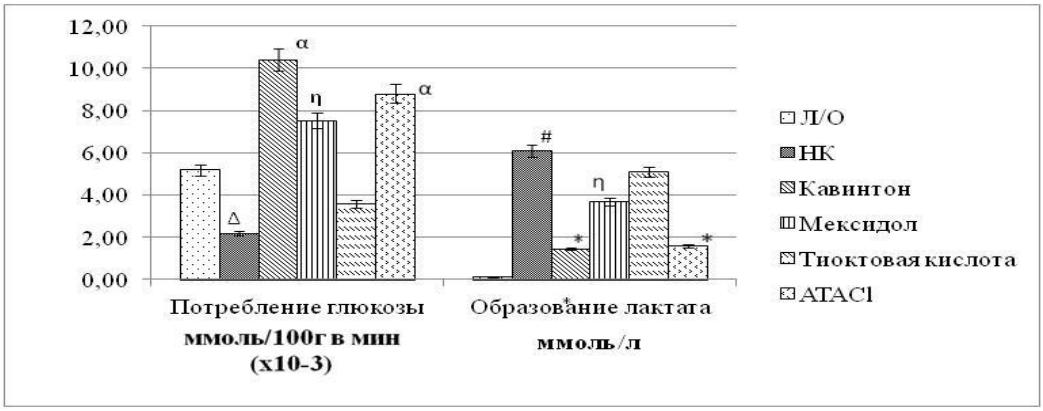

Рисунок 9. Влияние соединения ATACL и препаратов сравнения на процессы потребления глюкозы и концентрации лактата у крыс на фоне фокальной церебральной ишемии.

Обозначение: статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно Л/О группы крыс # - p<0,02; Δ - p<0,05;

статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно НК группы крыс* - p<0,01; α - p<0,02; η - p<0,05

Кроме того применение соединения ATACL способствовало увеличению концентрации митохондриальной АТФ-синтетазы и цитохром с-оксидазы у крыс в условиях фокальной церебральной ишемии (табл.7).

Таблица 7.

Изменение концентрации митохондриальной АТФ-синтетазы и цитохром с-оксидазы в условиях коррекции ишемии головного мозга соединением ATACL

Группа	Л/О	НК	Мексидол	Тиоктовая кислота	Кавинтон	ATACL
мАТФ нг/мл	125,5± 20,894	54,77± 6,583#	72,05± 8,838*	79,32± 17,395*	94,57± 2,656*	67,66± 4,824*
СОХ нг/мл	48,78± 0,287	21,16± 2,046#	40,25± 1,891*	38,67± 5,483*	41,24± 1,961*	44,6± 2,235*

Примечание: # - статистически значимо относительно Л/О группы животных (U-критерий Манна-Уитни, p<0,05);

*- статистически значимо относительно НК группы животных (U-критерий Манна-Уитни, p<0,05).

В итоге вышеописанные изменения эндотелиальной и митохондриальной функций при применении соединения ATACL способствовали уменьшению величины отека (рис.10) и размера зоны некроза головного мозга (рис.11).

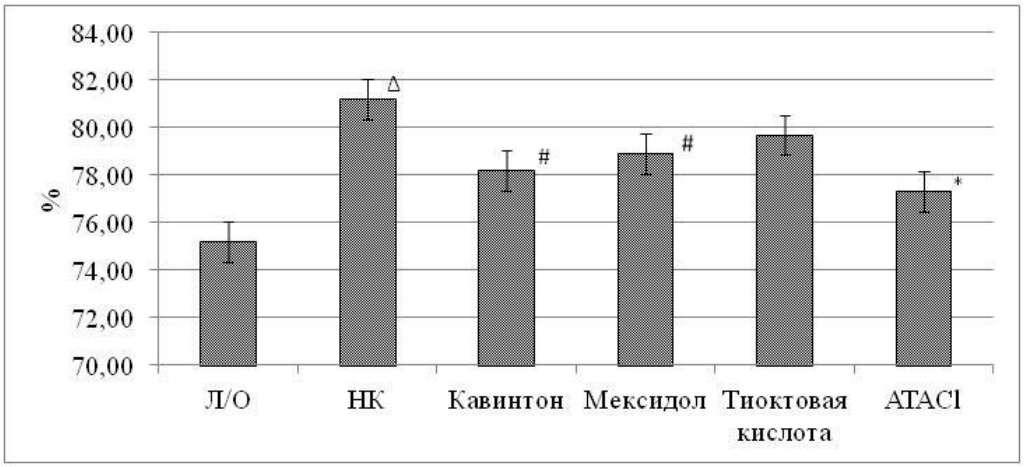

Рисунок 10. Влияние соединения ATACL и препаратов сравнения на степень гидратации головного мозга на фоне фокальной ишемии.
Обозначение: Δ - статистически значимо относительно Л/О группы животных (t – критерий Стьюдента, p<0,05);
статистически значимо (t-критерий Стьюдента) относительно НК группы крыс * - p<0,02; # - p<0,05.

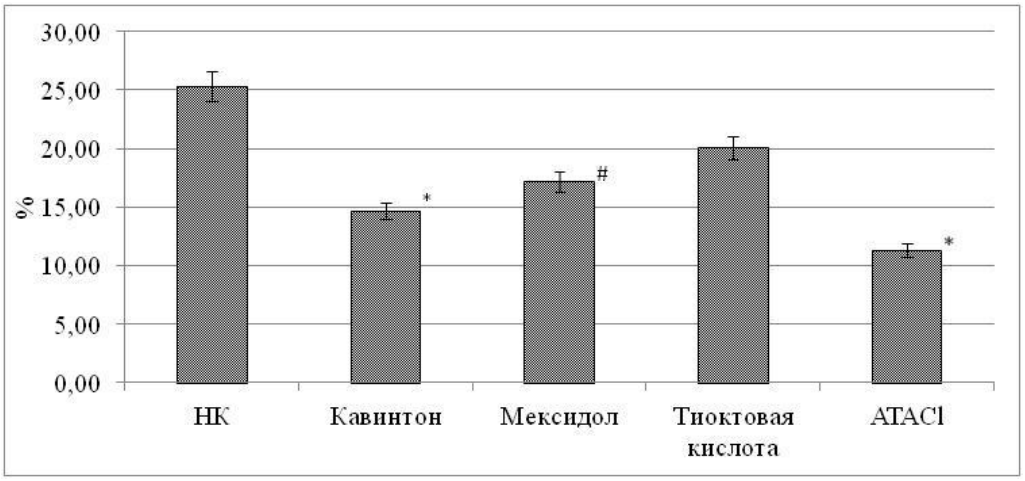

Рисунок 11. Влияние соединения ATACL и препаратов сравнения на размер зоны некроза головного мозга на фоне фокальной церебральной ишемии
Обозначение: статистически значимо (t – критерий Стьюдента) относительно НК группы крыс * - p<0,02; # - p<0,05

Заключение

Проведенное исследование показало, что в ряду флавоноидов и производных коричной кислоты наиболее выраженным эндотелиотропным действием обладает соединение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота, которое практически в равной с сулодексидом степени способствовало восстановлению вазодилатирующей, антитромботической и противовоспалительной функций эндотелия сосудов в условиях фокальной церебральной ишемии у крыс. При этом в основе эндотелиотропного влияния

4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты могут лежать прямые и непрямые антиоксидантные свойства данного соединения, а также способность уменьшать степень разобщения NO-синтазной системы и подавлять активность NOS-негативных регуляторных комплексов. Применение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты способствовало редукции ишемических явлений в головном мозге (снижение величины отека мозговой ткани, устранение лактат-ацидоза), реализуя тем самым, церебропротекторный эффект. Анализируя вышеизложенные факты, можно предположить, что соединение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота является перспективным объектом для проведения дальнейших доклинических и клинических исследований с целью создания на его основе лекарственного препарата для фармакотерапии нарушений мозгового кровообращения ишемического генеза.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования соединения ATACL в качестве эндотелиопротекторного средства для коррекции эндотелиальной дисфункции, развивающейся в условиях недостаточности мозгового кровообращения.
2. Следует продолжить дальнейшее исследование соединения ATACL с целью создания на его основе эндотелиопротекторного лекарственного средства для терапии осложнений ишемического инсульта.

ВЫВОДЫ:

1. В ряду флавоноидов и производных коричной кислоты (в общей сложности 16 соединений) наиболее выраженным положительным влиянием на эндотелиальную функцию в условиях ишемического повреждения головного мозга обладает соединение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота, которое сопоставимо по величине фармакологического эффекта с сулодексидом (статистически значимых отличий между группами крыс, получавших ATACL и сулодексид, не установлено).
2. Анализ зависимости «доза-эффект» для соединения 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота позволил установить, что наиболее выраженное эндотелиопротекторное действие данное соединение оказывает в дозе 100 мг/кг.
3. При фокальной ишемии головного мозга у крыс терапевтическое введение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты способствовало сохранению вазодилатирующей функции сосудистого эндотелия, стабилизировало работу NO-синтазной системы, уменьшало периферическое сосудистое сопротивление и улучшало эластичность сосудов.

4. Введение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты в условиях ишемического повреждения головного мозга восстанавливало антитромбогенный потенциал эндотелия сосудов у крыс путем снижения способности тромбоцитов к агрегации, активности коагуляционного компонента гемостаза, восстановления функции противосвертывающих систем, уменьшения концентрации тромбоксана A_2 (отмечено снижение данного показателя при применении соединения ATACL на 241,9 % ($p<0,05$)).

5. Применение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты сохраняло противовоспалительную функцию эндотелия сосудов при ишемии головного мозга у крыс, что подтверждается снижением концентрации СРБ на 99,1% ($p<0,05$) и устранением лейкоцитоза.

6. Механизм эндотелиопротекторной активности 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты в условиях ишемии головного мозга обусловлен прямой и непрямой антиоксидантной активностью данного соединения, а также повышением концентрации eNOS (на 114,2% ($p<0,05$)), снижением содержания iNOS, nNOS (на 61,9% ($p<0,05$) и на 60,6% ($p<0,05$) соответственно), матриксной металлопротеиназы-1 (на 37,7% ($p<0,05$)), протеинкиназы С (на 108,6% ($p<0,05$)), уменьшением концентрации ADMA (на 83,9% ($p<0,05$)).

7. Применение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты способствует улучшению метаболизма головного мозга и повышению митохондриальной функции за счет увеличения концентрации митохондриальной АТФ-синтетазы (на 23,5% ($p<0,05$)) и цитохром с-оксидазы, что в совокупности с эндотелиопротекторным действием и антиоксидантными свойствами способствовало уменьшению отека мозговой ткани (на 5% ($p<0,02$)) и величины зоны некроза головного мозга (на 123,9% ($p<0,02$)).

Список опубликованных работ по теме диссертации

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ

1. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В. Изучение вазодилатирующей и антитромботической функций эндотелия сосудов головного мозга крыс на различных моделях его ишемического повреждения // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5.;URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22406 (дата обращения: 14.06.2016).

2. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В. Сравнительная оценка влияния ATACL, мексидола и тиоктовой кислоты на антитромботическую функцию эндотелия и некоторые показатели состава периферической крови экспериментальных животных на фоне фокальной ишемии головного мозга // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2.; URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24398 (дата обращения: 14.06.2016).

3. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Рыбалко А.Е. Влияние гесперетина и нарингенина на вазодилатирущую функцию эндотелия сосудов на фоне ишемии головного мозга // Успехи современной науки.- 2016.- №7.- Т.2. - С.172-174.

4. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Геращенко А.Д., Рыбалко А.Е. Влияние флавоноидов морина и икариина на вазомоторную функцию сосудистого эндотелия на фоне ишемии головного мозга // Успехи современной науки и образования. – 2016. - №4.- Т.3. – С.200-202.

5. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В. Эндотелиопротекторные свойства флоридзина, 4-гидрокси 3,5-ди-третбутилкоричной кислоты и соединения VMA-10-18 при экспериментально вызванной ишемии головного мозга // Астраханский медицинский журнал.- 2016.-Т.11.-№3.- С.58-64.

6. Воронков А.В.,. Дьякова И.Н., Поздняков Д.И. Влияние природных соединений полифенольной структуры на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга крыс в условиях его фокальной ишемии // Эксп. и. клин. фармакология.- 2016.- Т.79.- №5.- С.7-9.

7. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В. Нарингин и апигенин улучшают вазодилатирающую функцию эндотелия сосудов головного мозга экспериментальных животных на фоне его фокальной ишемии // Вестник ВолгГМУ.- 2016.-№2 (58).- С. 111-114.

8. Воронков А.В., Оганесян Э.Т., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В., Червонная Н.М., Андреева О.А. Влияние соединения ATACL и препарата Б-40 на вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия сосудов головного мозга крыс в условиях его фокальной ишемии // Эксп. и. клин. Фармакология.- 2017.-Т.80.-№2.- С. 16-20

9. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Хури Е.И., Кульбекова Ю.Е., Кобин А.А. Оценка антиоксидантной активности 4-гидрокси-3,5-дитретбутил коричной кислоты, мексидола и тиоктовой кислоты на модели фокальной ишемии головного мозга // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2017.- №1 (61).- С. 48-52.

10. Воронков А.В., Оганесян Э.Т., Поздняков Д.И., Абаев В.Т. Изучение дозозависимого эндотелиотропного влияния соединения ATACL в условиях ишемического повреждения головного мозга у крыс в эксперименте // Вестник ВолгГМУ.- 2017.-№1 (61).- С.54-58.

11. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В., Арльт А.В. Изучение влияния соединения ATACL на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов у кроликов в условии ишемии головного мозга // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке.- 2017.- Т.19.- №8.-С.181-184.

12. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В., Арльт А.В. Влияние мексидола, тиоктовой кислоты и соединения ATACL на изменение электролитного баланса в условиях экспериментальной церебральной ишемии // Успехи современной науки.- 2017.- Т.9.- №3.- С.159-162.

13. Воронков А.В., Поздняков Д.И. Нарушение антитромботической функции эндотелия сосудов и некоторых параметров плазменного гемостаза на фоне фокальной ишемии головного мозга и их коррекция 4-гидрокси-3,5-дитретбутил коричной кислотой // Тромбоз, гемостаз и реология.- 2017.-№2 (70).- С. 73-78.

14. Воронков А.В. ,Оганесян Э.Т. , Поздняков Д.И. , Сивцева О.С., Червонная Н.М., Андреева О.А. Влияние флавоноидов: гесперидина и патулетина на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга экспериментальных животных на фоне его фокальной ишемии // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: медицина и фармация. 2017. – Т.39.-№19 (268).- С. 186-194.

Работы, опубликованные в других изданиях

15. D.I. Pozdnyakov, A.V. Voronkov, D.S. Zolotych. Possible Mechanisms of Endothelioprotection 4-Hydroxy-3,5-Di-Tretbutyl Cinnamic Acid in the Cerebral Ischemia in

Experiment // International Journal of Toxicological and Pharmacological Research.- 2017.- Vol. 9(3).-P. 189-193

16. Воронков А.В., Поздняков Д.И. Изучение влияния гесперидина и патулетина на процесс агрегации тромбоцитов на фоне фокальной ишемии головного мозга крыс Сборник материалов XXIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы Докладов. С.223-224.

17. Поздняков Д.И., Рыбалко А.Е. Влияние апигенина на антитромботическую функцию сосудистого эндотелия на фоне фокальной ишемии головного мозга // Молодой ученый. — 2016. — №5.- С.226-228.

18. Воронков А. В., Поздняков Д. И., Рыбалко А. Е., Попова В. В.Некоторые аспекты антиагрегантной и антикоагулянтной активности икариина в условиях экспериментальной цереброваскулярной патологии ишемического генеза. // Молодой учёный. Международный научный журнал. – 2016. - № 26 (130). С. 199-201.

19. Поздняков Д.И., Воронков А.В. Влияние морин гидрата на антитромботическую функцию сосудистого эндотелия на фоне фокальной ишемии головного мозга. Материалы II международной научно-практической конференции «Экспериментальный и клинические микроциркуляции и функции эндотелия». Смоленск. -2017. С.111-114.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АПФ – ангиотензин превращающий фермент
ПОЛ – перекисное окисление липидов
eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота
iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота
nNOS – нейрональная синтаза оксида азота
MMP-1 – матриксная металлопротеиназа – 1
PKC – протеинкиназа С
АДФ – аденозиндифосфат
ATACL - 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота
PGT – полифенолы зеленого чая
ЕВЛ – единицы высвобождения липротеидлипазы
СРБ – С – реактивный белок
СОД – супероксиддисмутаза
ГП – глутатионпероксидаза
ДК – диеновые конъюгаты
МДА – малоновый диальдегид
мАТФ – митохондриальная аденозинтрифосфат – синтетаза
ADMA – ассиметричный диметиларгинин
TXA_2 – тромбоксан A_2
Л/О – ложнооперированные животные
НК – негативный контроль
RI – индекс Пурсело
PI – индекс Гослинга
WBC – количество лейкоцитов
НО – нормализованное отношение
АТ – III - антитромбин – III
АЦХ – ацетилхолин
L – NAME – нитро – L – аргинин метиловый эфир
НТГ – нитроглицерин
АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время
ТВ – тромбиновое время
FW- факор фон Виллебранда
РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы
ТБК - тиобарбитуровая кислота

ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ И ФЛАВОНОИДОВ НА ФОНЕ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ПОЗДНЯКОВ ДМИТРИЙ ИГОРЕВИЧ

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук