

УДК 76.03.31, 616-092.9, 616-03, 616-091.8, 577.125.8, 57.017.3

© Коллектив авторов

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЮТЕОЛИНА, РОЗМАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЭХИНОХРОМА А ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КАРДИОПАТОЛОГИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ СТРЕССОМ

А.В. Цыбульский^{1}, А.М. Попов², А.А. Артюков², Э.Я. Костецкий¹,
О.Н. Кривошапко², А.Н. Мазейка¹, Э.П. Козловская¹*

¹Дальневосточный государственный университет, ГСП, ул. Октябрьская, 27,
690950 Владивосток; тел./факс: (4232)428147; эл. почта: avt_biotech@mail.ru

²Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток

Методом физической нагрузки в условиях нарушения коронарного кровообращения, вызванного инъекцией мезатона, индуцировали развитие кардиопатологии крыс, приводящей к декомпенсации сердечной функции и гибели 40% животных. При электронно-микроскопическом исследовании миокардиоцитов крыс обнаружены признаки дезорганизации митохондриального аппарата этих клеток. Введение в терапевтическом режиме препаратов лютеолина и эхинохрома А обеспечило 100% выживаемость животных. При этом митохондриальный аппарат кардиомиоцитов характеризовался нормальными параметрами, т.е. данные препараты обеспечили защитный адаптационный эффект на уровне миокардиоцитов. Розмариновая кислота подобной активности не проявила. Изучение некоторых метаболических параметров и эндокринного статуса животных также позволило выявить терапевтический эффект лютеолина и эхинохрома А.

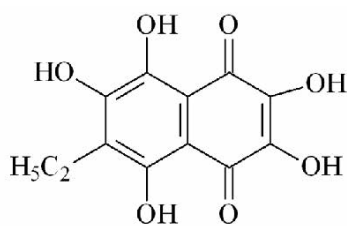
Полученные данные говорят о том, что эхинохром А и лютеолин способны играть важную положительную роль в метаболизме кардиомиоцитов, стимулируя биогенез митохондрий и изменяя адаптационно-приспособительные механизмы защиты сердечно-сосудистой системы организма.

Ключевые слова: 1,4-нафтохиноны, лютеолин, розмариновая кислота, сердечная недостаточность, кардиопротекторное действие.

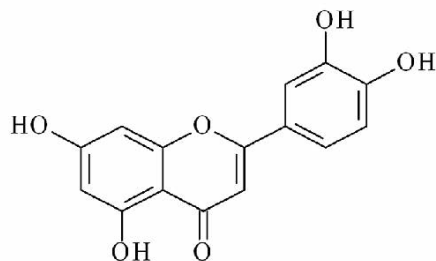
ВВЕДЕНИЕ. Заболевания сердечно-сосудистой системы являются основными причинами смертности в современном обществе, что связано, прежде всего, с увеличением доли пожилых людей и действием стрессов различной природы. Поиск новых эффективных, малотоксичных и доступных средств, направленных на коррекцию нарушений метаболического статуса сердечно-сосудистой системы организма при старении и стрессах, является одной из важнейших задач современной медицины.

Растения и морские гидробионты представляют интерес как источник новых лекарственных средств, получаемых на основе низкомолекулярных вторичных метаболитов [1]. Актуальным направлением подобных исследований является поиск эффективных кардиопротекторных средств с необычным механизмом действия. Нам представилось интересным оценить перспективность использования для лечения и профилактики кардиопатологий флавоноидов лютеолина (ЛТ) [2] и полифенола розмариновой кислоты (РК) [3], широко распространенных в различных видах растений и обладающих большим спектром биологической активности, а также - полигидроксинафтохинона эхинохрома А (ЭХА), выделенного из плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* и применяющегося в виде препарата "Гистохром" на ранних стадиях инфаркта миокарда [4] (рис. 1).

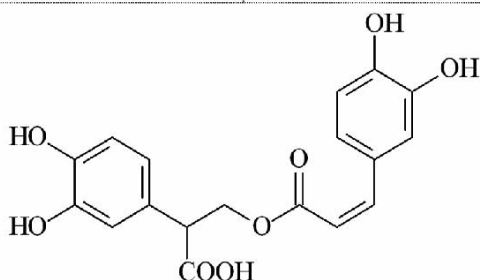
* - адресат для переписки



A



B



C

Рисунок 1.

Химическая структура исследуемых веществ.

(A) эхинохром A; (B) лютеолин; (C) розмариновая кислота.

В данной работе мы индуцировали развитие кардиопатологии у крыс, используя метод физической нагрузки (принудительное плавание в условиях нарушения системного кровообращения, вызванного подкожной (п/к) инъекцией мезатона). Цель эксперимента состояла в том, чтобы в условиях экспериментальной кардиопатии проанализировать особенности кардиопротекторной активности разных по структуре и механизму действия природных соединений: полигидроксинафтохинона ЭХА, флавонола ЛТ и полифенола РК.

МЕТОДИКА.

Животные. Исследования осуществлялись в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики GLP, Приказом Минздрава РФ №267 от 19.06.2003 г. “Об утверждении правил лабораторной практики”, Федеральным законом “О лекарственных средствах” (статья 36), Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств.

Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой тела 200-220 г, полученных из сертифицированного питомника лабораторных животных “Пушино” при Филиале института биоорганической химии РАН. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), в стандартных условиях вивария и при неограниченном доступе к пище и воде.

Животных рандомизированно разделяли на 5 групп по 5 животных в каждой: две контрольные группы: 1) группа интактных животных (Контроль), 2) группа отрицательного контроля, животным которой вводили метазон и подвергали

принудительному плаванию (Стресс), а также три опытные группы, которые также подвергались вышеперечисленным стрессовым воздействиям, но получали одинаковые лечебные дозы изучаемых препаратов: 3) группа Стресс+ЭХА; 4) группа Стресс+ЛТ и 5) группа Стресс+РК.

Экспериментальная модель: Плавательная нагрузка в воде комнатной температуры ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) в условиях нарушения гемодинамики, вызванного введением мезатона (фенилэфрина гидрохлорида) (ООО “ГНЦЛС”, Украина). Мезатон вводили п/к в объёме 0,1 мл 1% раствора однократно в течение 3 дней. Крысы сразу после инъекции подвергались плавательной нагрузке по следующей схеме: 1-й день - 20-минутное плавание до глубокого утомления, 2-й и 3-й дни – плавание в течение 10 мин.

Изучаемые препараты: полифенол розмариновая кислота (РК), флавоноид лютеолин (ЛТ) (“Sigma”, США), полигидроксинафтохинон эхинохром А (ЭХА) в виде 0,02%-ного раствора для инъекций (кардиопротекторный препарат “Гистохром”, ТИБОХ ДВО РАН). Препараты вводили перорально в дозе 10 мг/кг массы тела непосредственно после завершения плавательной нагрузки, а также – в течение 7 последующих дней.

Забой животных производили через 15 дней от даты начала эксперимента. Для исследования брали цельную кровь (с ЭДТА) и сыворотку крови.

Трансмиссионное электронно-микроскопическое исследование миокарда. Кусочки из интрамурального желудочкового миокарда размером 1 мм³ после стандартной обработки подвергали исследованию с использованием электронного микроскопа Iibra 120 (“Carl Zeiss”, Германия). Для повышения контраста изображения миокардиоцитов их обрабатывали “электронными красителями”, сильно рассеивающими электроны (уранилацетатом, цитратом свинца).

Гематологический анализ проводили с помощью гематологического анализатора Cell Dyn 3700 (“Abbott”, США).

Липиды сыворотки крови животных: триглицериды (ТГ), свободный холестерин (ХС), ХС липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) и ХС липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) исследовали с использованием биохимического анализатора “Cobas INTEGRA 400 plus” (“ROCHE”, Швейцария) и выражали в ммоль/л. Рассчитывали индекс атерогенности как частное от деления показателей ХС ЛПВП на ХС ЛПНП.

Анализ цитокинов в сыворотке крови производили методом твёрдофазного неконкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов Rat ELISA Set BD OptEIA™ (“BD Biosciences”, США) для изучения интерферона-гамма (ИФН γ) и интерлейкина-4 (ИЛ-4). Анализ проводили в соответствии с приложенными к набору инструкциями. Спектрофотометрирование производили при длине волны 450 нм на планшетном фотометре Elx808 (“BioTek”, США). Содержание цитокинов выражали в средней величине оптической плотности (ОП), характерной для каждой из экспериментальных групп.

Гормоны: кортизол, эстрадиол и тестостерон изучали методом конкурентного ИФА, определяя количественно в нмоль/л. Расчётным путём определяли отношение тестостерон/эстрадиол в сыворотке крови животных.

Статистическую обработку результатов проводили методами параметрического анализа с использованием критерия t-Стьюдента и методом доверительных интервалов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Модель индукции кардиопатологии, использованная нами в эксперименте, может быть охарактеризована как модель экстремального стресса. Чрезмерная физическая нагрузка на сердечно-сосудистую систему была вызвана принудительным плаванием и происходила на фоне действия мезатона, индуцирующего сосудистый спазм и нарушающего системное, в том числе коронарное, кровообращение. Уже на второй день эксперимента регистрировались факты гибели животных в группах “Стресс” и “Стресс+РК”, очевидно, вследствие развития острой сердечно-сосудистой недостаточности.

ДЕЙСТВИЕ ЛЮТЕОЛИНА И ЭХИНОХРОМА А ПРИ КАРДИОПАТОЛОГИИ

РК практически не оказала протективного действия - показатели гибели животных в группе "Стресс+РК" были аналогичны группе "Стресс", т.е. животных, подвергавшихся стрессу без последующего фармакологического воздействия. В этих группах к окончанию срока эксперимента количество выживших животных составляло 60%. В экспериментальных группах крыс, получавших препараты ЛТ и ЭХА, выжили все животные. Таким образом, по интегральному показателю действия препаратов - выживаемости животных - эффективными протективными препаратами оказались ЛТ и ЭХА. Выжившие животные, очевидно, имели более высокие структурно-функциональные ресурсы мышцы сердца и более эффективные механизмы адаптации, на которые в той или иной мере оказали влияние применяемые препараты.

Учитывая то обстоятельство, что мезатоновая модель стресса приводит к ухудшению трофики миокарда, особый интерес представляет морфологическая оценка состояния тканей миокарда и собственно кардиомиоцитов. Как показал анализ электронных снимков срезов сердца, в группе интактных животных кардиомиоциты имели нормальное строение: миофибриллы кардиомиоцитов были сокращены равномерно, каналцы саркоплазматического ретикулума не расширены, митохондрии распределены равномерно (отсутствовали обширные зоны, лишенные митохондрий), кристы по большей части были плотно упакованы и расположены параллельно (рис. 2А).

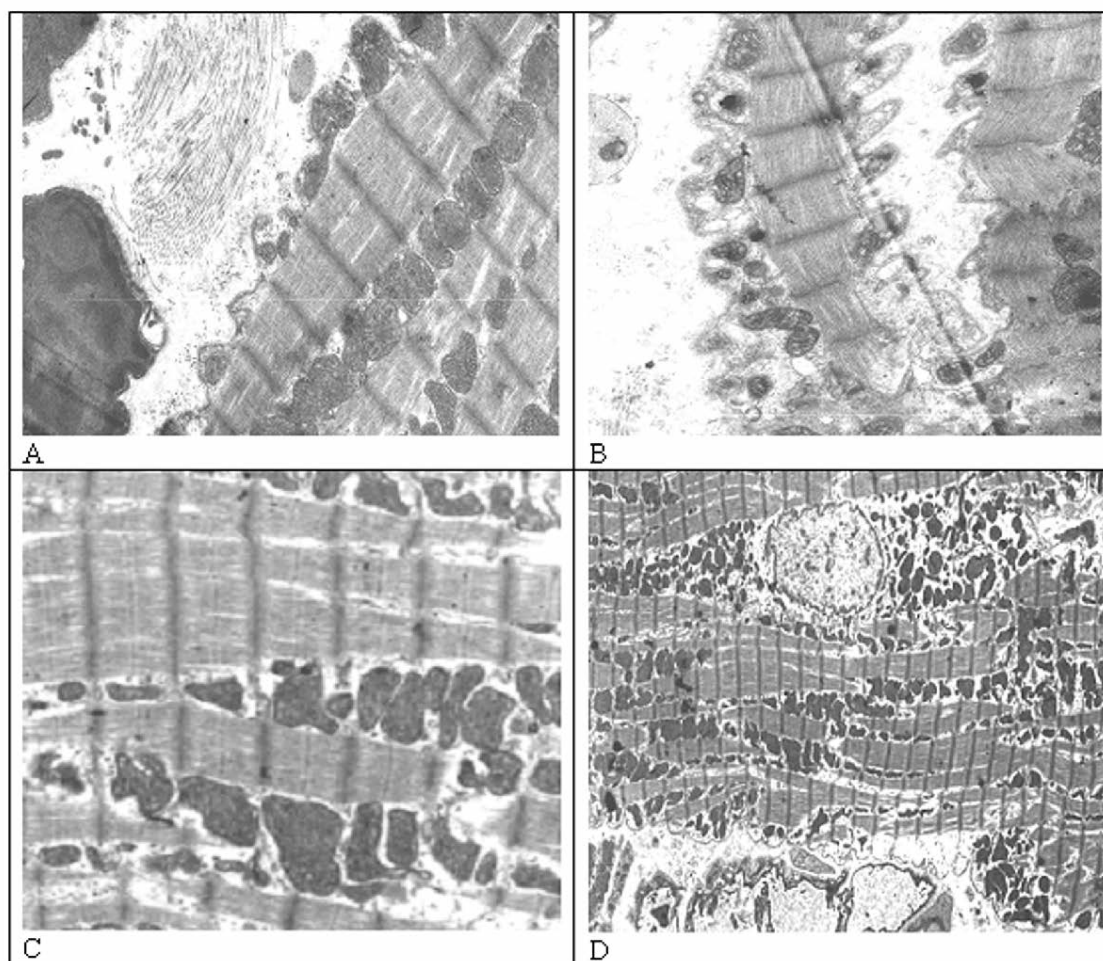


Рисунок 2.

Электронные микрофотографии кардиомиоцитов крыс.

А. Кардиомиоциты животных группы "Контроль", увеличение $\times 21000$.

В. Кардиомиоциты животных группы "Стресс", увеличение $\times 21000$.

С и D. Кардиомиоциты животных группы "Стресс+ЛТ", увеличение $\times 21000$ и $\times 4000$, соответственно.

В группе животных “Стресс” кардиомиоциты имели комплекс патологических изменений на ультраструктурном уровне (рис. 2B). В сердечной мышце крыс этой группы имеются многочисленные участки с неравномерно сокращенными миофибриллами. Канальцы саркоплазматического ретикулума сильно расширены. Митохондрии имеют более мелкие размеры, чем митохондрии животных группы “Контроль”. Кристы у большинства митохондрий животных группы “Стресс” непараллельны, неравномерно расширены, с электронносветлым матриксом. Наблюдается множество признаков митоптоза. В миокарде имеются протяженные участки, лишённые митохондрий.

В группе животных “Стресс+ЛТ” и “Стресс+ЭХА” на электронных микрофотографиях кардиомиоцитов определяется сходная картина, характеризующаяся чрезвычайно развитым митохондриальным аппаратом (рис. 2C). Отмечено приядерное скопление митохондрий (рис. 2D). Митохондрии имеют плотно расположенные кристы. Проявления митоптоза незначительны, и, по-видимому, отражают восстановление кардиомиоцитов от окислительного стресса. Миофибриллы равномерно сокращены, саркоплазматические канальцы умеренно расширены, а сосудистый эндотелий образует лишь единичные выросты в просвет сосудов.

Группа “Стресс+РК” характеризуется практически аналогичным состоянием миокардиоцитов группы “Стресс”, т.е. положительная динамика отсутствует.

Таким образом, на ультраструктурном уровне доказано протективное действие при экспериментальном стрессе препаратов ЛТ и ЭХА, что выражается в сохранении нормальной структуры миофибриллярного аппарата и митохондрий кардиомиоцитов у животных, получавших данные препараты перорально на фоне действия стрессового фактора. При этом, защитный эффект препаратов ЛТ и ЭХА выражен примерно в одинаковой степени и существенно превосходит активность РК. Учитывая тот факт, что описанные выше изменения состояния миокардиоцитов сохраняются через 12 дней после прекращения действия стрессовой модели, можно предположить, что последствия воздействия стресса могут затрагивать и другие органы и системы, отражаясь в устойчивом изменении многих других физиологических параметров.

С целью изучения возможных механизмов реализации протективного (адаптационного) действия изученных препаратов на состояние здоровья животных были исследованы некоторые показатели крови, роль которых в формировании сердечно-сосудистой патологии в настоящее время общепризнанна. В частности, таковыми являются изменения липидного метаболизма, способные приводить к развитию сосудистой патологии в виде атеросклероза, тромбоза и др.

Изучение у выживших животных биохимических параметров, характеризующих липидный статус крови, позволило выявить следующие тенденции (рис. 3). Отмечено заметное изменение параметров липидного статуса в экспериментальных группах животных, получавших препараты ЛТ и ЭХА. Регистрируется снижение содержания холестерина в сыворотке крови животных этих групп. Однако, ХС ЛПНП и индекс атерогенности снижаются только в группе животных, получавших ЛТ. Следует подчеркнуть, что сама по себе “мезатоново-плавательная” модель стресса не приводит к каким-либо существенным модуляциям параметров липидного статуса. Наблюдается только незначительная тенденция к повышению уровня индекса атерогенности сыворотки крови. Однако, учитывая известную тенденцию к повышению риска атерогенеза при действии стресса, особенно – интенсивного и длительного, можно оценить снижение индекса атерогенности, выявляемое в группе животных, получавших ЛТ, как критерий кардиопротективной структурно-функциональной адаптации.

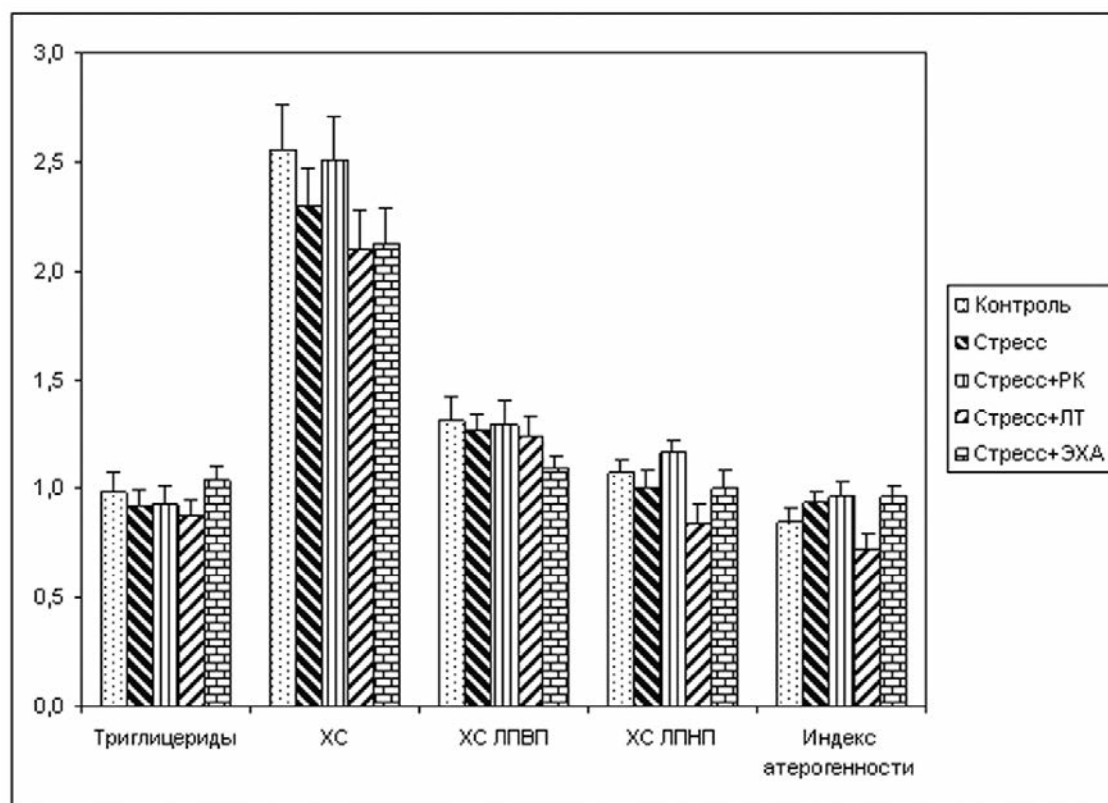


Рисунок 3.

Показатели липидного статуса у крыс через 15 дней после начала эксперимента с моделью кардиостресса.

По оси абсцисс - содержание липидов в сыворотке крови крыс в ммоль/л и индекс атерогенности в расчётных единицах.

По оси ординат - показатели липидного статуса: триглицериды, свободный холестерин (ХС), ХС липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), ХС липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) и индекс атерогенности.

Учитывая важное значение гормональных механизмов регуляции реакций организма в ответ на действие стресса, представляет интерес оценка в сыворотке крови уровня гормона кортизола, являющегося ключевым элементом в системе ответных реакций организма на стресс. Представленные на рисунке 4 данные показывают снижение уровня кортизола во всех экспериментальных группах. Это изменение было более заметным в экспериментальных группах животных, получавших изучаемые препараты. При этом достоверные отличия по уровню кортизола определяются только в группе ЭХА ($p < 0,01$). Эти данные трудно однозначно трактовать, так как они получены через значительный период времени после прекращения мезатоново-двигательной нагрузки на организм. Возможно, что снижение содержания данного гормона стресса в крови животных изученных экспериментальных групп имеет разную природу. Так, в группе “Стресс” и в группе “Стресс+РК” снижение уровня кортизола может отражать истощение адаптационных резервов организма, что, собственно, и привело к гибели части животных. Тогда как в группах животных “Стресс+ЛТ” и “Стресс+ЭХА” снижение уровня кортизола может быть следствием развития состояния адаптации и гиперadaptation. Мы считаем, что определение динамики и механизмов таких сдвигов в содержании кортизола требует дополнительной оценки его содержания в крови животных в различные временные периоды действия стресса.

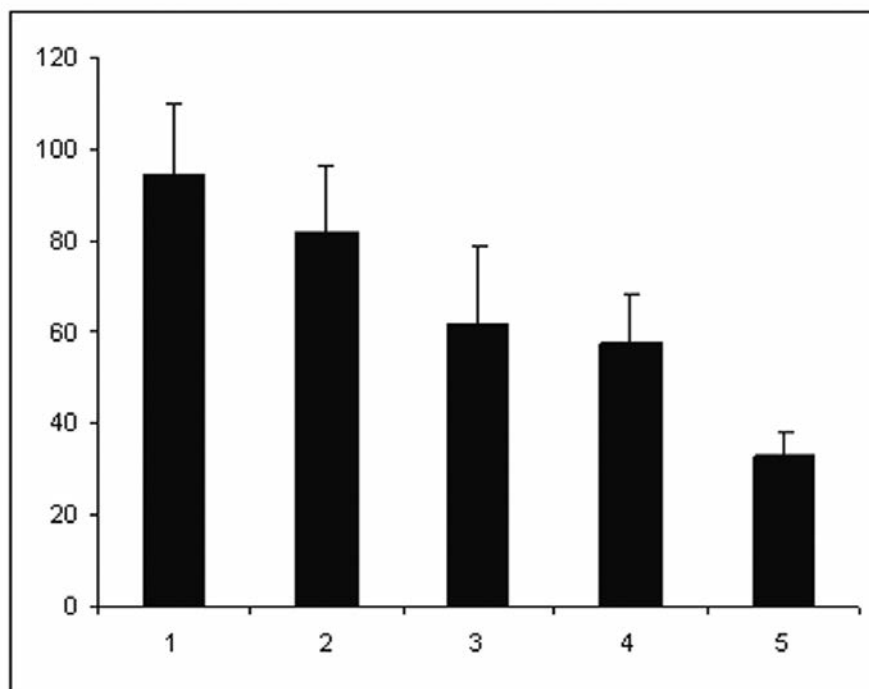


Рисунок 4.

Содержание кортизола в сыворотке крови крыс через 15 дней после начала эксперимента с моделью кардиостресса.

По оси абсцисс - экспериментальные группы животных: 1 - контроль, 2 - Стресс, 3 - Стресс+ПК, 4 - Стресс+ЛТ, 5 - Стресс + ЭХА.

По оси ординат - содержание кортизола в нмоль/л.

Действие длительного интенсивного стресса, истощающего адаптационные ресурсы организма, часто приводит к уменьшению гормональных ресурсов половой системы. В связи с этим, наряду с оценкой содержания кортизола, мы провели также изучение влияния данной модели стресса на уровень половых гормонов животных. Во всех экспериментальных группах результатом действия стресса являются однонаправленные изменения, связанные со снижением уровня тестостерона в сыворотке крови животных и снижением расчетного показателя, характеризующего отношение уровня тестостерона к уровню эстрадиола (табл. 1). Особенно заметное снижение относительного содержания тестостерона происходит в крови животных, получавших препараты РК и ЛТ. Возможно, что это связано с активностью данных препаратов как селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов [5]. Эстрогены имеют сильный антиоксидантный эффект *in vivo*. Продукция пероксида водорода значительно увеличивается (более чем на 50%) после овариэктомии, и этот процесс полностью прекращается, когда эвариэктомизированным крысам вводится эстрадиол. Эстрадиол индуцирует глутатионпероксидазу-1 и Mn-SOD. Этот процесс требует участия эстрогенового рецептора и активации путей, включающихся в ответ на окислительный стресс, который развивается при стрессе. Увеличение уровня указанных выше ферментов может предотвратить нарушения, вызываемые окислительным стрессом [6].

ДЕЙСТВИЕ ЛЮТЕОЛИНА И ЭХИНОХРОМА А ПРИ КАРДИОПАТОЛОГИИ

Таблица 1. Содержание половых гормонов в сыворотке крови крыс-самцов линии Вистар через 15 дней после начала эксперимента с моделью кардиостресса.

Группы животных	Эстрадиол, нмоль/л	Тестостерон, нмоль/л	Отношение тестостерон/эстрадиол
Контроль	0,050±0,006	11,9±2,9	238,4
Стресс	0,044±0,005	8,1±2,4	186,2
Стресс + РК	0,0635±0,007	8,3±3,2	130,6
Стресс+ЛТ	0,08±0,01	6,4±1,5	80,0
Стресс +ЭХА	0,0398±0,006	7,7±2,5	193,4

Несмотря на то, что в условиях нашей модели стрессогенной кардиопатологии регистрируется одинаковый уровень протективной активности двух разных по механизмам действия препаратов - ЛТ и ЭХА, следует признать, что в отношении состояния половой сферы, применение ЭХА является более безопасным. Использование ЭХА в рамках адаптации к стрессу у особей мужского пола не несет в себе риска развития комплекса дисгормональных последствий. Напротив, применение ЛТ в рамках этой экспериментальной модели требует изучения и на животных женского пола. Полученные в этом случае данные позволяют сформировать подходы к регуляции процессов адаптогенеза в условиях данной модели стрессогенной кардиопатологии с учетом межполовых различий. В частности, применение ЛТ у особей женского пола может обеспечить эффект устранения возрастного или патологического дефицита эстрогеновой функции и, таким образом, - повысить устойчивость сердечно-сосудистой системы к развитию заболеваний, являющихся, в том числе, результатом воздействия на организм тяжелого и длительного стресса.

Важным аспектом действия стресса на организм считаются изменения со стороны системы крови. Изменения гемограммы при стрессе происходят как за счёт изменения интенсивности процессов кроветворения, так и за счёт изменения устойчивости клеток крови к действию различных регуляторных, в частности – апоптотических сигналов. Обычными для действия длительного стресса на организм является развитие лейкопении, изменения лейкоформулы и транзиторная иммуносупрессия.

В нашем эксперименте установлена тенденция к развитию лейкопении и нейтропении при стрессе, т.е., изменения, в целом характеризующие снижение общей резистентности организма (табл. 2). В группах животных, получавших препараты ЛТ и ЭХА, отмечена коррекция этих параметров крови до показателей интактного контроля. РК такого корректирующего эффекта не обеспечивала. Моноцитоз, обнаруженный у крыс, подвергшихся действию стресса, сохранялся во всех экспериментальных группах. Только применение ЭХА обеспечило тенденцию к коррекции этого показателя крови. Таким образом, препараты ЛТ и ЭХА по-разному влияют на показатели этого важного компонента клеточных механизмов резистентности. Влияния стрессовой модели на параметры содержания эозинофилов и базофилов крови не обнаружено. Также не установлено и изменений в содержании эритроцитов и показателей гемоглобина, т.е. данная модель стресса и применяемые препараты не влияли на показатели

красной крови. Однако отмечено выраженное влияние стресса на содержание в крови тромбоцитов. Если в контроле показатель составлял $479 \pm 35 \cdot 10^9/\text{л}$, то в экспериментальных группах, подвергшихся стрессовому воздействию, содержание тромбоцитов определялось в диапазоне $772\text{--}834 \cdot 10^9/\text{л}$. При этом, влияния изученных препаратов на содержание тромбоцитов не установлено: во всех экспериментальных группах определяется высокий уровень тромбоцитов. С одной стороны, это характеризует факт отсутствия угнетения тромбоцитопоэза со стороны стрессогенных факторов. С другой – является дополнительным фактором риска в отношении сердечно-сосудистой системы, демонстрируя устойчивый характер постстрессовых изменений в организме животных. Подобные изменения могут приводить к развитию разнообразной патологии сосудов, атеросклероза, сосудистых тромбозов, инфарктов и инсультов. Очевидно, что сдерживание на фоне такого неблагоприятного сосудистого фенотипа проявлений различной сосудистой патологии будет зависеть от тонкого баланса систем регуляции: гормонов, компонентов кинин-калликреиновой системы, цитокинов и др. Обнаруженная нами протективная активность препаратов ЛТ и ЭХА в условиях данной стрессовой модели диктует необходимость детального изучения молекулярных механизмов влияния этих препаратов на системы поддержания гомеостаза организма, и особенно – на систему свёртывания и цитокиновые механизмы регуляции.

Таблица 2. Показатели гемограммы у крыс-самцов линии Вистар через 15 дней после начала эксперимента с моделью кардиостресса.

Группы животных	Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$	%Нейтрофилы	%Лимфоциты	%Моноциты
Контроль	$7,8 \pm 1,2$	$26,4 \pm 2,3$	$57,4 \pm 3,1$	$6,5 \pm 1,2$
Стресс	$6,4 \pm 1,6$	$21,2 \pm 1,8$	$56,0 \pm 4,5$	$9,1 \pm 1,6$
Стресс+РК	$6,6 \pm 0,9$	$22,4 \pm 1,7$	$58,6 \pm 3,4$	$9,2 \pm 1,4$
Стресс+ЛТ	$8,6 \pm 1,1$	$28,1 \pm 2,8$	$48,9 \pm 4,9$	$10,2 \pm 1,4$
Стресс+ЭХА	$7,3 \pm 1,3$	$27,8 \pm 2,1$	$48,8 \pm 3,4$	$7,7 \pm 0,7$

При изучении таких важных для иммунорегуляции цитокинов, как ИФН γ и ИЛ-4, мы не выявили значимых различий между группами по уровню содержания в сыворотке крови ИФН γ (данные не представлены). То есть, использованная модель стресса не приводила к устойчивому повышению этого важного флоггенного и иммунорегуляторного цитокина. Различия в исследуемых группах по уровню ИЛ-4 оказались более заметными (рис. 5). Во всех группах животных, подвергшихся действию стресса, выявляется однонаправленная тенденция – снижение содержания ИЛ-4 в сравнении с интактными животными. При этом ЛТ и ЭХА проявляют активность в плане восстановления содержания этого цитокина, важного для генерации механизмов В-клеточного иммунитета. Особенно заметна эта восстановительная тенденция в группе животных, получавших препарат ЭХА. Данное обстоятельство в совокупности с вышеописанными изменениями гемограммы позволяет говорить о снижении риска иммунокомпроментации организма в результате действия стресса в случае применения препарата ЭХА.

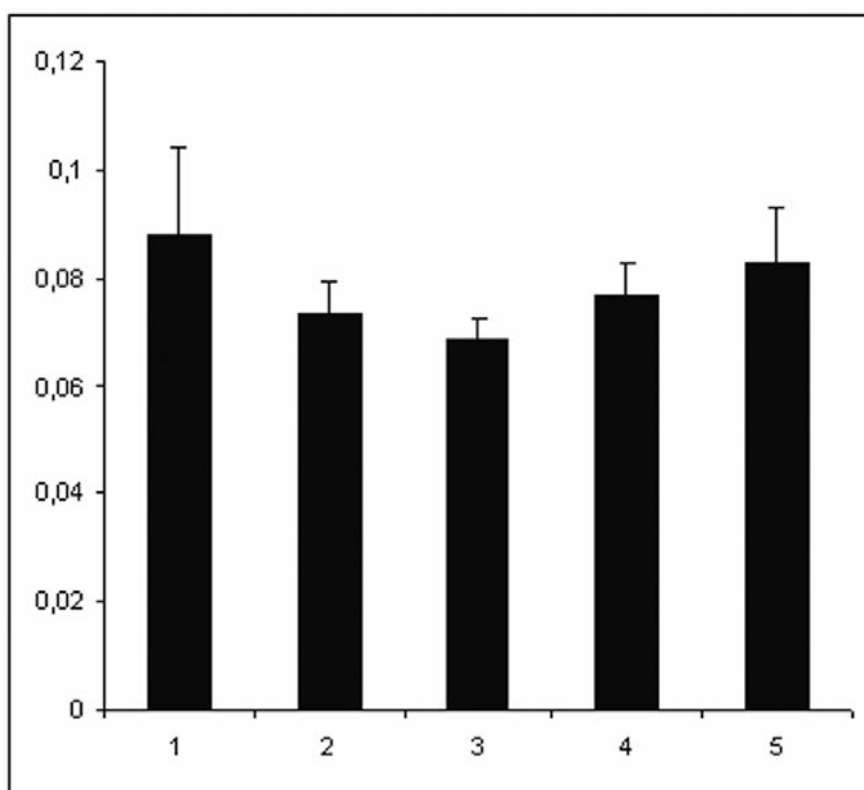


Рисунок 5.

Содержание ИЛ-4 в сывотке крови крыс через 15 дней после начала эксперимента с моделью кардиостресса.

По оси абсцисс: экспериментальные группы животных: 1 - контроль, 2 - Стресс, 3 - Стресс+РК, 4 - Стресс+ЛТ, 5 - Стресс + ЭХА.

По оси ординат - показатели оптической плотности при 450 нм.

В целом, изученные показатели крови, гормонального и липидного метаболизма не показывают серьезных, критически значимых повреждений, которые могли бы быть связаны с действием примененной нами стрессовой модели. Мы не выявили у экспериментальных животных глубоких изменений состава крови и гормонального статуса, развития иммунологической недостаточности, дислипидемических сдвигов, характерных для действия длительного, истощающего резервы организма стресса. Используемая нами модель мезатонового стресса в большей степени характеризуется развитием более острых и смертельно опасных изменений в сердечно-сосудистой системе, реализующихся, в первую очередь, на уровне миокарда. Развивается комплекс метаболических изменений, характерных для окислительного стресса и приводящих к ухудшению трофики миокарда и падению его функциональных ресурсов. В этой связи, особенно ценен тот факт, что препараты ЛТ и ЭХА способны достаточно быстро обеспечить повышение функциональных ресурсов миокардиоцитов за счёт усиления процессов митохондриогенеза и/или защиты митохондриального аппарата клеток миокарда от действия метаболитов, связанных с окислительным стрессом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Каков возможный механизм увеличения митохондрий в кардиомиоцитах животных, получавших ЛТ и ЭХА? Недавно стало известно [7], что эстрогеновые рецепторы вместе с $\alpha 1$ -коактиватором γ -рецептора (PGC-1), активирующим пролиферацию пероксисом, являются

основными регуляторами функциональной активности митохондрий [8]. При этом вторичные метаболиты фенольной (резвератрол, генистеин, кверцетин) и хинидной (пирролохинолинихинон) улучшают митохондриальный дыхательный контроль и стимулируют митохондриальный биогенез. Это имеет большое значение для поддержания жизнеспособности кардиомиоцитов, сердечно-сосудистой системы, а, следовательно, здоровья в широком смысле этого слова: увеличения продолжительности жизни, улучшения использования энергии и защиты от АФК.

Нарушение функции митохондрий миокардиоцитов является характерной чертой многих патологических состояний (таких, как эндотоксемия, шок, ацидоз, ишемия/реперфузия и другие). Цель возможной терапии в таких случаях - увеличение продукции АТФ клетками миокарда. 1,4-Нафтохиноны, к которым относятся ЭХА, могут быть эффективным электронным переносчиком между различными митохондриальными электрон-отдающими и электрон-принимающими ферментативными комплексами, и тем самым - уменьшать нарушения в кардиомиоцитах при гипоксии или ингибировании митохондриальной дыхательной цепи, развивающиеся в результате метазонового стресса. Так, метадиион и его производные восстанавливают продукцию АТФ после блокады электронного потока через митохондриальный комплекс I в присутствии ротенона, нормальный уровень Ca^{2+} после перегрузки, вызванной гипоксией, и способность кардиомиоцитов сокращаться после блокады NADH:убихинон оксидоредуктазы ретиноном [9]. Кроме этого, кардиопротекторное действие ЭХА может быть связано с эффективным перехватом водорастворимых ион-радикалов, в частности, супероксид анион-радикала и особенно пероксильных радикалов [10].

Следует подчеркнуть, что высокая антирадикальная и антиоксидантная активность вещества не является гарантией его эффективности при окислительном стрессе на уровне организма. В нашем эксперименте РК, обладающая самой высокой из трех исследованных веществ антиокислительной активностью [10], не проявляет протективного действия на мезатон-двигательной модели стресса.

Таким образом, применение ЭХА и ЛТ приводит к системному защитному эффекту, возможно связанному с повышением как антиоксидантных, так и адаптационно-приспособительных механизмов защиты организма животных. ЭХА и ЛТ в перспективе могут стать эффективными кардиопротекторными средствами, которые могут использоваться как в виде монотерапии, так и в сочетании с другими препаратами для лечения и профилактики сердечно-сосудистых патологий. Необходимы дальнейшие исследования взаимодействия этих веществ с редокс-чувствительными клеточными сигнальными путями и их роли в биогенезе митохондрий.

Работа поддержана грантом Правительства РФ для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих учёных в российских образовательных учреждениях, договор 11.G34.31.0010, и грантом Министерства образования и науки РФ (проект АБЦП 2.2.2/603/1013).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Попов А.М.* (2003) Биологическая активность и механизмы действия вторичных метаболитов из наземных растений и морских беспозвоночных: Дисс. докт. наук, Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток.
2. *Seelinger G., Merfort I., Schempp C.M.* (2008) *Planta Med.*, **74**, 1667-1677.
3. *Al-Sereiti M.R., Abu-Amer K.M., Sen P.* (1999) *Indian J. Experim. Biol.*, **37**, 124-131.
4. *Лебедев А.В., Левицкая Е.Л., Тихонова Е.В., Иванова М.В.* (2001) *Биохимия*, **66**, 885-893.

5. Huang Z., Fang F., Wang J., Wong C.-W. (2010) FEBS Letters., 584, 22-26.
6. Vina J., Borras C., Gomez-Cabrera M.C., Orr W.C. (2006) Free Radic. Res., **40**(2), 111-119.
7. Chowanadisai W., Bauerly K.A., Tchapanian E., Wong A., Cortopassi G.A., Rucker R.B. (2010) J. Biol. Chem., **285**, 142-152.
8. Giguere V. (2008) Endocrine Rev., **29**(6), 677-696.
9. Shneyvays V., Leshem D., Shmist Y, Zinman T., Shainberg A. (2005) J. Mol. Cell Cardiol., **39**(1), 149-158.
10. Кривошапко О.Н., Попов А.М., Артюков А.А. (2009) Здоровье. Мед. экология. Наука, **39-40**(4-5), 86-89.

Поступила: 03. 06. 2010.

THE COMPARATIVE STUDY OF THE MEDICAL ACTION
OF LYUTEOLIN, ROSMARINIC ACID AND ECHINOCHROM A
AT EXPERIMENTAL STRESS-INDUCED CARDIOPATHOLOGY

A.V. Tsybulsky¹, A.M. Popov², A.A. Artyukov², E.Y. Kostetsky¹, O.N. Krivoshapko²,
A.N. Maseyka¹, E.P. Kozlovskaya¹

¹Far Eastern National University, ul. Oktyabrskaya 27, Vladivostok, 690050 Russia;
tel./fax: (4232)455139; e-mail: vitauct@yahoo.com

²Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of Russian Academy of Science,
pr. 100-let Vladivostoku, 159, Vladivostok, 690022 Russia

The method of the physical load in condition of the coronary circulation of the blood disturbance, caused mesaton injection, induced development rat cardiopathology, bring about of the heart function decompensation and 40% death of experimental animals. Under electronic-microscopic study of rat cardiomyocytes are discovered signs to disorganizations of mitochondrial apparatus of these cells. Administration to therapeutic mode of luteolin and echinochrome A preparations has provided to 100% animal probability of survival. At the same time, mitochondrial apparatus of cardiomyocytes was characterized by the normal parameter i.e. given preparations have provided of defensive adaptive effect at cardiomyocytes level. Similar activities for rosmarinic acid have not shown. Study some metabolic parameter and endocrine status animal has also allowed revealing of therapeutic effect of luteolin and echinochrome A.

Findings be evidence of that echinochrome A and luteolin capable to play the important positive role in metabolism of cardiomyocytes by stimulating of mitochondrial biogenesis and by changing of adaptative mechanisms of the organism cardiovascular system protection.

Key words: 1,4-naphthoquinones, luteolin, rosmarinic acid, heart failure, cardioprotection.