

© Нагорна О. О., **Магомедов С., Чекман І. С., **Кузуб Т. А., Горчакова Н. О., *Беленічев І. Ф.

УДК 616. 12-008. 331. 1:616-092. 4]-085:615. 225. 2:615. 036. 6

*Нагорна О. О., **Магомедов С., Чекман І. С., **Кузуб Т. А., Горчакова Н. О., *Беленічев І. Ф.*

ДІЯ ІРБЕСАРТАНУ В КОМБІНАЦІЇ З АНГІОЛІНОМ НА КОМПОНЕНТИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (м. Київ)

*Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

**ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМНУ» (м. Київ)

Дана робота є фрагментом НДР «Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування кардіотропних препаратів» № держ. реєстрації 0111U009417.

Вступ. Ірбесартан – добре вивчений блокатор рецепторів ангіотензину II, який біля 20 років призначають для лікування артеріальної гіпертензії (АГ). Препарат ефективно знижує артеріальний тиск, попереджає серцево-судинні ускладнення та добре переноситься, оскільки його прийом не супроводжується кашлем, головним побічним ефектом інгібіторів АПФ [7]. Ірбесартан добре сполучається з іншими лікарськими засобами та може застосовуватися з метою доповнення механізмів дії їх активності (регресія гіпертрофії лівого шлуночка, підвищення еластичності артерій, поліпшення функції ендотелію та ін.) [3]. У досліджах *in vivo* та *in vitro* доведені ендотеліопротекторні властивості ірбесартану [10]. Існують також докази позитивного впливу цього препарату на міокард лівого шлуночка (зниження індексу маси міокарду в пацієнтів з м'якою та помірною АГ) [11]. Доведена також властивість ірбесартану уповільнювати прогресування нефропатії у пацієнтів з АГ та цукровим діабетом (ЦД) [13]. Саме при цукровому діабеті та гіпертензії спостерігається погіршення показників сполучної тканини [12]. Виявлений взаємозв'язок між порушенням показників діяльності серця, функціонування нирок та біохімічними змінами сполучної тканини сироватки крові хворих і тварин [1, 4, 5]. Не визначеними є зміни показників сполучної тканини в умовах спадкової артеріальної гіпертензії та під впливом ірбесартану і похідного триазолу ангіоліну, у якого встановлені ендотеліопротекторні властивості.

Мета дослідження – визначення впливу ірбесартану та ендотеліопротектора ангіоліну на компоненти сполучної тканини щурів при експериментальній гіпертензії.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведено на 28 щурах лінії HSIAN з спонтанно генетично зумовленою артеріальною гіпертензією (з систолічним тиском 170–180 мм рт.ст.) та 7 інтактних нормотензивних щурах лінії WKY, масою 180–210 г. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург,

1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Експеримент проводили на 5 групах тварин:

- 1 – інтактні тварини;
- 2 – гіпертензивні тварини (САГ);
- 3 – лікування ангіоліном (50 мг/кг)(САГ+ангіолін);
- 4 – лікування ірбесартаном (30 мг/кг)(САГ+ірбесартан);
- 5 – лікування ірбесартаном у комбінації з ангіоліном (30 мг/кг+50 мг/кг) (САГ+ангіолін+ірбесартан).

Препарати вводили внутрішньошлунково протягом 3 міс. Тварин декапітували під хлоридно-уретановим наркозом.

У сироватці крові цих тварин визначали наступні показники:

- фракції гідроксипроліну (ГП) виділяли за методом Frey [6];
- вміст гідроксипроліну у фракціях (мкмоль/л) визначали за Stegemann [13];
- активність колагенази (мкмоль/л·год) визначали за Lindy [9] (із використанням субстрату колагену виробництва фірми Sigma);
- сумарний вміст глікозаміногліканів (ГАГ) визначали за Кляцким С. А. та Ліфшицем Р. І. [2].

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз біохімічних даних, отриманих в експериментальних тварин з моделлю спонтанної артеріальної гіпертензії (САГ), свідчить, що активність колагенази сироватки крові зростає до 162% відносно нормальних величин, характерних для здорових тварин (абсолютний показник досягає $4,65 \pm 0,15$ мкмоль/л·год при нормі $2,87 \pm 0,15$ мкмоль/л·год) (**табл.**).

У тварин цієї ж групи вміст вільної фракції гідроксипроліну – біохімічного маркера резорбції основного білка сполучної тканини колагену, зростає до 117%, а в абсолютних показниках до $10,03 \pm 0,15$ мкмоль/л при нормі $8,59 \pm 0,13$ мкмоль/л (**табл.**).

Показник протеїнів'язаного гідроксипроліну – біохімічного маркера синтетичної фази білка колагену – досягає $5,85 \pm 0,24$ мкмоль/л при фізіологічній нормі $4,14 \pm 0,16$ мкмоль/л (**табл.**), або 141%.

Показники, що відображають метаболізм глікозаміногліканів (ГАГ) сягають $0,46 \pm 0,02$ г/л при нормі $0,25 \pm 0,02$ г/л, або 184% (**табл.**).

Аналіз біохімічних даних у цієї групи тварин свідчить про високу активність синтетичної та

Вплив ірбесартану та ангіоліну на компоненти сполучної тканини в сироватці крові щурів з артеріальною гіпертензією

Таблиця

Група тварин	Колагеназа, мкмоль/л·год	Фракції гідроксипроліну, мкмоль/л		ГАГ, г/л
		вільна	протеїнзв'язана	
Інтактні	2,86±0,10	8,58±0,14	3,91±0,15	0,25±0,01
САГ	4,65±0,15*	10,03±0,15*	5,85±0,24*	0,46±0,02*
САГ+ангіолін	4,04±0,11**	8,64±0,13**	4,11±0,14**	0,31±0,01**
САГ+ірбесартан	4,08±0,16	8,79±0,13**	4,42±0,10**	0,29±0,01**
САГ+ангіолін+ірбесартан	3,65±0,10**	8,49±0,10**	3,94±0,13**	0,25±0,01**

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем; ** – $p < 0,05$ порівняно з тваринами зі САГ.

катаболічної фаз основного білка сполучної тканини колагену та ГАГ. Це підтверджується високою активністю колагенази – одного з ключових ферментів, що приймає участь у катаболічній фазі метаболізму колагену, і високою концентрацією протеїнзв'язаного білка – маркера синтетичної фази. При цьому необхідно відзначити, що синтетична фаза переважає в метаболізмі цього білка та ГАГ.

Аналіз даних 3-ї групи тварин (спонтанна артеріальна гіпертензія+ангіолін 50 мг/кг) свідчить, що активність колагенази зростає до $4,04 \pm 0,11$ мкмоль/л·год при нормі $2,87 \pm 0,15$ мкмоль/л·год, а в відсотковому відношенні це становить 141% до норми (табл.). При цьому в межах нормальних величин залишається вміст вільного гідроксипроліну – біохімічного маркера катаболізму колагену. Вміст протеїнзв'язаного гідроксипроліну також знаходиться в межах фізіологічної норми без особливих відхилень $4,11 \pm 0,14$ мкмоль/л при нормі $4,14 \pm 0,16$ мкмоль/л (табл.).

Концентрація ГАГ зростає до 124% відносно норми (абсолютний показник $0,31 \pm 0,01$ г/л при нормі $0,25 \pm 0,02$ г/л) (табл.).

Біохімічні показники, що відображають метаболізм органічної основи сполучної тканини у тварин цієї групи (САГ+ангіолін), свідчать про те, що метаболізм основного білка сполучної тканини – колагену знаходиться в межах фізіологічної норми, але при цьому в метаболізмі ГАГ – компонента, який визначає біомеханічні та фізіологічні властивості сполучної тканини, переважає катаболічна фаза. Можна припустити, що такі зміни метаболізму основних компонентів сполучної тканини, у тому числі і судинної системи, призводять до змін структури та функції судинного русла.

Дані, отримані при дослідженні сироватки крові у тварин 4-ї групи (спонтанна артеріальна гіпертензія+ірбесартан 30 мг/кг), показали, що активність колагенази зростає до 142% відносно до норми (абсолютний показник $4,08 \pm 0,16$ мкмоль/л·год при нормі $2,87 \pm 0,15$ мкмоль/л·год). У тварин цієї ж групи вміст вільної фракції гідроксипроліну

залишається в межах нормальних величин, характерних для інтактних тварин – $8,79 \pm 0,13$ мкмоль/л при нормі $8,59 \pm 0,13$ мкмоль/л. Показники протеїнзв'язаного гідроксипроліну також знаходяться в межах нормальних величин з тенденцією до зростання – 107% по відношенню до фізіологічної норми (абсолютний показник $4,42 \pm 0,10$ мкмоль/л при нормі $4,14 \pm 0,16$ мкмоль/л). Вміст ГАГ досягає $0,29 \pm 0,01$ г/л при нормі $0,25 \pm 0,02$ г/л, або 116% норми (табл.).

Отримані дані у тварин цієї групи свідчать про те, що препарат ірбесартан сприяє стабілізації метаболічних процесів сполучної тканини тварин з моделлю спонтанної артеріальної гіпертензії. При цьому необхідно

відзначити, що активність одного з ключових ферментів у метаболізмі білка колагену колагенази залишається високим.

Аналіз біохімічних показників, отриманих при дослідженні сироватки крові 5-ї групи тварин (спонтанна артеріальна гіпертензія+ірбесартан+ангіолін), показав, що активність колагенази дещо вище норми – 127% по відношенню до норми, але нижче ніж у САГ, САГ+ангіолін та САГ+ірбесартан групах. Вміст вільного гідроксипроліну (біохімічного маркера резорбції колагену) знаходиться в межах фізіологічної норми – $8,49 \pm 0,10$ мкмоль/л (норма $8,59 \pm 0,13$ мкмоль/л), або 99% (табл.). Концентрація протеїнзв'язаного гідроксипроліну дещо нижче норми і становила 95% (абсолютний показник $3,94 \pm 0,13$ мкмоль/л (норма $4,14 \pm 0,16$ мкмоль/л)). У тварин цієї ж групи показники, що відображають концентрацію ГАГ, знаходяться в межах нормальних величин.

Таким чином, аналіз біохімічних показників, отриманих при дослідженні метаболічних змін основних компонентів сполучної тканини експериментальних тварин з моделлю спонтанної артеріальної гіпертензії свідчить про те, що розвиток патологічного процесу супроводжується порушенням катаболічної та синтетичної фаз колагену та ГАГ.

Можна стверджувати, що метаболічні порушення основних компонентів сполучної тканини під впливом ірбесартану і ангіоліну відновлюються і досягають нормальних фізіологічних норм. Це підтверджують отримані результати, які відображають метаболічні зміни досліджуваних компонентів і можуть свідчити про пригнічення процесу ремоделювання серця та поліпшення ендотеліальної дисфункції [8]. Не виключено, що відома властивість ірбесартану впливати на сигнальні шляхи і активність геному [14], стабілізує вміст показників сполучної тканини і лежить в основі ендотеліо- та кардіопротекторної дії препаратів, тому, можливо, ангіолін сприяє більшій активації цих показників.

Висновки.

1. При експериментальній артеріальній гіпертензії в сироватці крові тварин зростає активність колагенази, вміст вільної і протеїнів'язаної фракцій гідроксипроліну та показники, що відображають метаболізм глікозаміногліканів.

2. Ангіолін підвищує активність колагенази, вміст вільної та протеїнів'язаної фракцій гідроксипроліну. Концентрація ГАГ також перевищує показники норми.

3. При введенні ірбесартану більше знижується активність колагенази, якщо порівняти з активністю цього ферменту після введення ангіоліну, але порівняно з нормою залишається високою. Вміст вільної та протеїнів'язаної фракцій гідроксипроліну знаходиться в межах норми. Вміст ГАГ залишається

високим порівняно з нормою, але нижче, ніж у тварин при введенні ангіоліну.

4. Сумісне застосування ірбесартану з ангіоліном найбільш ефективно впливає на стабілізацію метаболічних процесів у експериментальних тварин. Активність колагенази сягає 127% відносно норми, і біохімічні маркери колагену та ГАГ досягають нормальних величин.

Перспективи подальших досліджень. Доцільним вважається подальше дослідження квантово-хімічних характеристик можливого впливу ірбесартану, ангіоліну та їх сполучення на біосубстрати при внутрішньошлунковому 3-х місячному введенні на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та морфології міокарду щурів із САГ.

Література

1. Земцовский Э. В. Есть ли смысл выделять самостоятельный синдром дисплазии соединительной ткани сердца? / Э. В. Земцовский, Э. Г. Малев, Н. Н. Парфенова [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2008. – № 1 (прил. 2). – С. 18–23.
2. Кляцкин С. А. Методика определения гликозаминогликанов орциновым методом в крови больных / С. А. Кляцкин, Р. И. Лифшиц // Лаб. дело. – 1989. – № 10. – С. 51–53.
3. Кобалава Ж. Д. Фиксированная комбинация ирбесартан/амлодипин: эффективность и безопасность применения 4 дозовых режимов у пациентов с артериальной гипертензией / Ж. Д. Кобалава // Кардиология. – 2014. – Т. 54, № 6. – С. 15–20.
4. Яковлев В. М. Нарушение ритма и проводимости при соединительнотканной дисплазии сердца / В. М. Яковлев, Р. С. Карпов, Ю. Б. Белан. – Омск: Изд-во «Агентство курьер», 2001. – 160 с.
5. Cezar M. D. Aldosterone blockade reduces mortality without changing cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats / M. D. Cezar, R. L. Damatto, P. F. Martinez [et al.] // Cell. Physiol. Biochem. – 2013. – Vol. 32, № 5. – P. 1275–1287.
6. Frey S. Etude d'une methode d'exploration et du taux normal de l'hydroxyproline du serum / S. Frey // Biochem., Biophys. – 1965. – № 2. – P. 446–450.
7. Gialama F. Comprehensive overview: efficacy, tolerability, and cost-effectiveness of irbesartan / F. Gialama, N. Maniadakis // Vasc. Health. Risk. Manag. – 2013. – № 9. – P. 575–592.
8. Guo K. Effects of Xin-Ji-Er-Kang formula on 2K1C-induced hypertension and cardiovascular remodeling in rats / Guo K., Lan C. Z., Yu T. T. [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2014. – Vol. 155, № 2. – P. 1227–1235.
9. Lindy S. Collagenolytic activity in rheumatoid synovial tissues / S. Lindy, J. Halme // Clin. Chim. Acta. – 1973. – № 2. – P. 153–157.
10. Matsui T. Irbesartan inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced up-regulation of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) mRNA levels in glomerular endothelial cells / T. Matsui, Y. Nishino, S. Maeda [et al.] // Microvasc. Res. – 2011. – Vol. 81, № 3. – P. 269–273.
11. Merkus D. Coronary vasoconstrictor influence of angiotensin II is reduced in remodeled myocardium after myocardial infarction / D. Merkus, D. B. Haitzma, O. Sorop [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2006. – Vol. 291, № 5. – P. 2082–2089.
12. Rosa C. M. Diabetes mellitus activates fetal gene program and intensifies cardiac remodeling and oxidative stress in aged spontaneously hypertensive rats / C. M. Rosa, N. P. Xavier, D. Henrique Campos [et al.] // Cardiovasc Diabetol. – 2013. – Vol. 12, № 1. – P. 152.
13. Stegemann H. J. A simple procedure for the determination of hydroxyproline in urine and bone / H. J. Stegemann // Biochem. Med. – 1952. – № 1. – P. 23–30.
14. Zhang Z. Z. Cardiac protective effects of irbesartan via the PPAR-gamma signaling pathway in angiotensin-converting enzyme 2-deficient mice / Z. Z. Zhang, Q. H. Shang, H. Y. Jin [et al.] // J. Transl. Med. – 2013. – № 11. – P. 229.

УДК 616. 12-008. 331. 1:616-092. 4]-085:615. 225. 2:615. 036. 6

ДІЯ ІРБЕСАРТАНУ В КОМБІНАЦІЇ З АНГІОЛІНОМ НА КОМПОНЕНТИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Нагорна О. О., Магомедов С., Чекман І. С., Кузуб Т. А., Горчакова Н. О., Беленічев І. Ф.

Резюме. Ірбесартан – добре вивчений блокатор рецепторів ангіотензину II, який біля 20 років признають для лікування артеріальної гіпертензії (АГ), завдяки значній ефективності по відношенню не тільки щодо пониження артеріального тиску, але й профілактики серцево-судинних ускладнень, та добрій переносимості, оскільки його прийом не супроводжується кашлем, головним побічним ефектом інгібіторів АПФ. Препарат добре сполучається з іншими лікарськими засобами, оскільки доповнює механізми їх дії та активність (регресія гіпертрофії лівого шлуночка, підвищення еластичності артерій, поліпшення функції ендотелію та ін.). У дослідях in vivo та in vitro доведені ендотеліопротекторні властивості ірбесартану. Існують також докази позитивного впливу ірбесартану на міокард лівого шлуночка (пониження індексу маси міокарду в пацієнтів з м'якою та помірною АГ).

Ключові слова: ірбесартан, ангіолін, артеріальна гіпертензія, компоненти сполучної тканини.

УДК 616. 12-008. 331. 1:616-092. 4]-085:615. 225. 2:615. 036. 6

ДЕЙСТВИЕ ИРБЕСАРТАНА В КОМБИНАЦИИ С АНГИОЛИНОМ НА КОМПОНЕНТЫ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Нагорная А. А., Магомедов С., Чекман И. С., Кузуб Т. А., Горчакова Н. А., Беленичев И. Ф.

Резюме. Ирбесартан – хорошо изученный блокатор рецепторов ангиотензина II, который около 20 лет назначают для лечения артериальной гипертензии (АГ), благодаря значительному снижению артериального давления, но и профилактике сердечно-сосудистых осложнений, хорошей переносимости, поскольку его прием не сопровождается кашлем, главным побочным эффектом ингибиторов АПФ. Препарат хорошо сочетается с другими лекарственными средствами, дополняя их механизмы действия и активность (регрессия гипертрофии левого желудочка, повышение эластичности артерий, улучшение функции эндотелия и др.). В опытах in vivo и in vitro доведены эндотелийпротекторные свойства ирбесартана. Имеются доказательства положительного влияния ирбесартана на миокард левого желудочка (понижение индекса массы миокарда у пациентов с мягкой и умеренной АГ).

Ключевые слова: ирбесартан, ангиолин, артериальная гипертензия, компоненты соединительной ткани.

UDC 616. 12-008. 331. 1:616-092. 4]-085:615. 225. 2:615. 036. 6

Influence of Angiotensin II on the Connective Tissue Components in the Rats Serum with Experimental Hypertension

Nagornaya A. A., Magomedov S., Chekman I. S., Kuzub T. A., Gorchakova N. A., Belenichev I. F.

Abstract. Experimental studies of different antihypertensive medicinal products' mechanism of action in rats with spontaneous arterial hypertension (SAH) were conducted at the Pharmacology Department, O. O. Bogomolets National Medical University, since by pathogenic mechanism it most closely corresponds to the development of hypertensive disease in human.

Angiotensin II blockers receptors prevent activation of the renin-angiotensin system and development of pathological changes in the cardiovascular system and kidneys. Irbesartan is well-studied receptor blockers angiotensin II, which is about 20 years is prescribed for the treatment of arterial hypertension (AH) due to the significant effectiveness in relation not only lowering blood pressure, but also the prevention of cardiovascular complications, good endurance, because it is not accompanied by cough, the main side effect of ACE inhibitors. The drug is well combined with other drugs to complement the mechanisms of action and activity (regression of hypertrophy of the left ventricle etc).

There are no data about cooperative influence of irbesartan and metabolite drug angiotensin only connective tissue component in the serum in the condition of hypertension. The aim of the study was to determine the influence of irbesartan and endothelioprotector angiotensin components of the connective tissue in the serum of rats with experimental hypertension on the connective tissue components in the rats serum with experimental hypertension. The experiments were conducted on 30 rats HSI AH spontaneously with genetically determined hypertension (systolic pressure 170-180 mm Hg) and 7 control the normotensive WKY rats weighing 180-210 g. The experiment was carried out in 5 groups of animals: group 1 – intact animals; group 2 – hypertensive animals (SAG); group 3 – angiotensin treatment (50 mg/kg); group 4 -irbesartan treatment (30 mg/kg); group 5 – irbesartan with angiotensin treatment (30 mg/kg+50 mg/kg). The drugs were injected intragastrically for 3 months. Animals deceptively under chloroform anesthesia. The following indicators were determined in the serum of these animals by known methods: fractions of hydroxyproline, collagenase activity, the total content of glycosaminoglycans.

In experimental hypertension in the rats serum the activity of collagenase increases to 162% compared to normal values characteristic of healthy animals. The content of free hydroxyproline fractions biochemical marker of resorption of the main protein of connective tissue collagen, increases to 117%, protein connected hydroxyproline fractions – to 141%. Indicators reflecting the metabolism of glycosaminoglycans rise to 184%. In experimental arterial hypertension in the blood serum of animals angiotensin increases the activity of collagenase, the content of free and protein connected hydroxyproline. The concentration of glycosaminoglycans remains increased. After the introduction of irbesartan the activity of collagenase, was decreased more when compared with the activity of this enzyme after the angiotensin introduction, but in comparison with the normal data it remains high. The content of free and protein connected hydroxyproline fraction is normal. The glycosaminoglycans content is still high compared to the normal data, but less than after the angiotensin introduction.

Cooperative application irbesartan with angiotensin more effectively influence on the connective tissue components in the rats serum with experimental hypertension, because of the stabilization of metabolic processes in experimental animals. The activity of collagenase is 127% compared to the normal and biochemical markers of both collagen and glycosaminoglycans reach normal values.

It can be argued that metabolic disorders major components of connective tissue under the influence of irbesartan and angiotensin recover and reach regulation physiological norms.

Keywords: irbesartan, angiotensin, arterial hypertension, components of connective tissue.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 5. 09. 2014 р.