

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И СОЕДИНЕНИЙ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ НА КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ

М.В. Ковалева, В.Ю.Афонин

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Республика Беларусь,
vengeria@tut.by

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из острейших проблем современной цивилизации, которая приводит к смертности взрослого трудоспособного населения и уже составила 30% всех случаев смерти в мире [1].

На протяжении длительного времени для лечения ССЗ разрабатывают и используют моно и поли терапию лекарственными средствами, однако процент гибели от данной патологии продолжает неуклонно расти. В силу сложного и многофакторного механизма развития ССЗ необходимо проводить корректный подбор схемы лекарственных средств, основываясь на знании механизмов их действия и учитывая индивидуальные особенности течения заболевания у пациента. Согласно литературным данным при развитии патологического ремоделирования миокарда наблюдается гибель кардиомиоцитов и усиливается пролиферация фибробластов, что нарушает связь между кардиомиоцитами и, следовательно, снижает функцию сердца. Был разработан терапевтический подход, который решает данную проблему, путем стимулирования пролиферации гематопозитических стволовых клеток с образованием новых кровеносных сосудов. В результате происходит дополнительное обеспечение кислородом и улучшается работа сердца. Поиск вещества обладающего селективным действием в отношении клеток сердца позволит снизить или предотвратить развитие патологического процесса в миокарде. Линии клеток широко используются в качестве *in vitro* моделей для изучения действия различных веществ. Линия клеток яичника китайского хомячка (линия СНО) является стандартом для определения токсических свойств лекарственных средств. Первичная культура из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar состоит из фибробластов, кардиомиоцитов, гематопозитических стволовых клеток. Изучение гетерогенной клеточной популяции позволяет оценить чувствительность данных клеток к различным веществам.

На сегодняшний день в Республике Беларусь существует несколько групп лекарственных средств используемых для лечения ССЗ и стимулируют пролиферацию гематопозитических стволовых клеток. Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (иАПФ) занимают одно из лидирующих положений. К препаратам данной группы относятся лекарственные средства с активным компонентом лизиноприл и каптоприл. По данным белорусского информационно-аналитического агентства “Инфофарм” данные препараты входят в первую десятку по объему поставок для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

По данным Национального института здоровья США на 2014 год изучается действие соединений полифенольной природы на пролиферативные процессы клеток. Троксирутин является биофлавоноидом с Р-витаминной активностью и относится к лекарственным средствам. Данное вещество помимо ангиопротекторных свойств обладает противовоспалительным, антиоксидантным, противоапоптотическим, анти-ДНК повреждающим действием, которые играют важную роль в предотвращении развития гипертрофического процесса [1]. Эпигаллокатехин-3-галлат является катехином и относится к пищевым добавкам и лекарственным средствам и обладает Р-витаминной активностью. Среди большого числа катехинов, только для эпигаллокатехин-3-галлата описано кардиопротекторное действие. Данное вещество обладает сильным антиоксидантным действием и стимулирует пролиферативные процессы клеток определенного типа [2].

Не смотря на длительный опыт использования и хорошо изученное действие лизиноприла, каптоприла и троксирутина, эпигаллокатехин-3-галлата в медицинской

практике, остается открытым вопрос о механизмах действия и влиянии данных препаратов на процессы ремоделирования миокарда.

Следовательно, изучение особенностей действия различных иАПФ и соединений полифенольной природы на выживаемость клеточных культур является актуальной задачей и позволит корректно проводить подбор лекарственных средств, основываясь на особенностях их действия для профилактики и терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Цель. Изучить свойства лизиноприла, каптоприла, троксерутина, эпигаллокатехин-3-галлата на линии клеток СНО и первичной культуре из сердечной эмбриональной ткани крыс.

Материалы и методы. Исследование выживаемости клеток в присутствии лизиноприла, каптоприла, троксерутина, эпигаллокатехин-3-галлата проводили методом МТТ – теста. Использовали набор CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega, США) и линии клеток яичника китайского хомячка (линия СНО) и первичную культуру из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar. В лунки 2-7 рядов 96-луночного планшета с линиями клеток добавляли по 100 мкл исследуемых средств, требуемой концентрации. На основании литературных и полученных экспериментальных данных были разработаны схемы концентраций. В качестве контроля ростовой среды использовали 1-ый ряд и контроля клеточной культуры – 2-й ряд 96-луночного планшета. Через 24 часа после инкубирования лекарственных средств с культурами клеток, регистрацию данных проводили при длине волны равной 492 нм на приборе для иммуноферментного анализа Microplate Rider Stat Fax 3200 (Awareness technology Inc, США). Результаты представлены как среднее арифметическое значение плюс/минус стандартная ошибка среднего для выборки.

Результаты. Было установлено, что каптоприл оказывает неселективное действие на исследуемые клеточные линии. В дозах 0,1, 1,0, 10 мМ антигипертензивного средства выживаемость клеток линии СНО статистически значимо снижалась по сравнению с контрольной группой и была равна $84,15 \pm 1,60\%$, $20,86 \pm 2,32\%$, $7,24 \pm 0,61\%$, $p \leq 0,05$ соответственно. При действии каптоприла в дозах 0,13, 3,2, мМ статистически значимо снижалась выживаемость первичной культуры из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar по сравнению с контрольной группой и была равна $97,45 \pm 3,38\%$, $80,20 \pm 5,92\%$, $p \leq 0,05$ соответственно.

Лизиноприл оказывает селективное действие на исследуемые клеточные линии. В дозах 0,2, 0,4, 4 мМ антигипертензивного средства статистически значимо снижалась выживаемость клеток линии СНО по сравнению с контрольной группой и была равна $73,4 \pm 2,38\%$, $71,89 \pm 1,76\%$, $26,44 \pm 0,56\%$, $p \leq 0,05$ соответственно. При действии лизиноприла в дозах 0,2, 0,4, 1,4 мМ статистически значимо увеличивалась выживаемость первичной культуры из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar по сравнению с контрольной группой и была равна $84,65 \pm 2,16\%$, $95,10 \pm 2,90\%$, $100,94 \pm 3,29\%$, $p \leq 0,05$ соответственно.

Было установлено, что троксерутин оказывает неселективное действие на исследуемые клеточные линии. В дозах 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,12 мМ соединения полифенольной природы выживаемость клеток линии СНО статистически значимо снижалась по сравнению с контрольной группой и была равна $95,19 \pm 5,09\%$, $100,77 \pm 6,27\%$, $89,71 \pm 6,30\%$, $94,35 \pm 6,05\%$, $87,28 \pm 1,97\%$, $p \leq 0,05$ соответственно. При действии троксерутина в дозах 0,9, 1,8, 4,5 мМ статистически значимо снижалась выживаемость первичной культуры из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar по сравнению с контрольной группой и была равна $109,86 \pm 7,24\%$, $100,05 \pm 3,20\%$, $97,30 \pm 5,00\%$, $p \leq 0,05$ соответственно.

Было установлено, что эпигаллокатехин-3-галлат оказывает неселективное действие на исследуемые клеточные линии (данные не представлены), однако в низких дозах стимулирует ростовые процессы. При действии соединения полифенольной природы в дозах 0,00035, 0,00052, 0,0012, 0,0013 мМ выживаемость клеток линии СНО статистически значимо увеличивалась по сравнению с контрольной группой и была равна $106,20 \pm 4,79\%$, $106,99 \pm 15,12\%$, $117,60 \pm 8,09\%$, $142,38 \pm 7,65\%$, $p \leq 0,05$ соответственно. При действии эпигаллокатехин-3-галлата в дозах 0,00018, 0,00025, 0,00035 мМ статистически значимо

увеличивалась выживаемость первичной культуры из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar по сравнению с контрольной группой и была равна $88,81 \pm 16,52\%$, $106,02 \pm 18,65\%$, $88,78 \pm 12,06\%$, $p \leq 0,05$ соответственно.

Полученные нами данные согласуются с литературными данными. Селективные цитопротекторные и/или цитотоксические свойства в гетерогенной клеточной популяции клеток миокарда при действии иАПФ могут быть связаны с блокадой превращения ангиотензина I в ангиотензин II, гидролизом кинина, или ингибированием НАДФ-оксидазы с блокированием гидролиза пептида N-ацетил-серил-аспартил-лизил-пролина, физиологического субстрата N-концевого участка АПФ [3]. Эпигаллокатехин-3-галлат оказывает действие на процессы апоптоза, образования микроядер, клеточный цикл, воспаление [2], что может влиять на выживаемость клеток.

Заключение. Таким образом, Лизиноприл оказывает селективное действие на исследуемые клеточные линии. С увеличением дозы антигипертензивного средства снижается выживаемость клеток линии CHO и возрастает пролиферация первичной культуры из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar. При использовании эпигаллокатехин-3-галлата в низких концентрациях наблюдается возрастание выживаемости клеток линии CHO и первичной культуры из сердечной эмбриональной ткани крыс Wistar.

ЛИТЕРАТУРА

1. Geetha, R. Troxerutin suppresses lipid abnormalities in the heart of high-fat–high-fructose diet-fed mice./ R. Geetha, B. Yogalakshmi, S. Sreeja, K. Bhavani, C. V. Anuradha.// J. Mol. Cell Biochem–2014.- № 387.– P. 123-134.
2. Hao, J. Epigallocatechin-3gallate prevents cardiac hypertrophy induced by pressure overload in rats / J. Hao, Ch.-H. Kim, T.-S. Ha, H.-Y. Ahn // J.Veterinary Science. – 2007.–Vol. 8. – № 2. – P. 121-129.
3. Peng, H. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors : A New Mechanism of Action./ H. Peng, O. A. Carretero, N. Vuljaj, T.-D. Liao, A. Motivala, E. L. Peterson, N.-E.Rhaleb // J. Circulation. –2005. - № 112.– P. 2436-2445.

EFFECTS OF THE ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITERS AND POLYPHENOL COMPOUNDS ON THE CELL CULTURES.

M.V. KAVALEVA, V.Yu. AFONIN

Summary

Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitors and polyphenol compounds on the cell cultures were studied.

In the research were found what lisinopril has a selective effect on the cell cultures. During enhancement of lisinopril concentration, it was found decreasing of CHO cells survival rate and proliferation reinforcement of cardiac embryonal tissue primary culture of WKY rats. Captopril and troxerutin had not selective effect on cell cultures. It was found what low doses of epigallocatechin-3-gallat increased of CHO cells and cardiac embryonal tissue primary culture of WKY rat's survival rate.

To sum it up lisinopril has a selective effect on the cell cultures and epigallocatechin-3-gallat increased of CHO cells and cardiac embryonal tissue primary culture of WKY rat's survival rate.