

УДК 612.12-008.4.46005.4-092.4

**В. Ф. Сагач, Т. В. Шиманська, О. С. Зульфiгаров,
О. Г. Овчиннікова, А. І. Гоженко**

Вплив екстракту винограду на скоротливу активність міокарда та коронарний потік ізолюваного серця морської свинки

В експериментах на ізолюваному серці морської свинки досліджено вплив речовин, що містяться в винограді, на скоротливу активність міокарда та коронарне судинне русло. Показано, що внутрікоронарне введення однієї з фракцій винограду супроводжалося суттєвим збільшенням показників скоротливої активності міокарда, збільшенням коронарного потоку та споживання кисню. Блокада біосинтезу оксиду азота зменшувала дилататорну реакцію коронарних судин. Результати даної роботи свідчать про наявність у ягодах винограду речовин, що викликають збільшення скоротливої активності міокарда та ендотеліо-залежне розширення коронарних судин.

Вступ

Багато дослідників приваблює з'ясування причини так званого «французького парадоксу» — низької кількості випадків ішемічної хвороби серця та інфаркту міокарда у Франції, незважаючи на високий рівень споживання очищених жирів. Одні з них пояснюють його особливостями Середньоземноморської дієти, багаті на свіжі овочі та фрукти, головним джерелом ліпідів в якій є оливкова олія [19]. Показано, що поліфеноли, які входять до її складу, мають антиоксидантні та протизапальні властивості, стимулюють синтез оксиду азоту, інактивують супероксидні радикали і пригнічують синтез лейкотриєнів [19, 20]. Чимало епідеміологічних досліджень пов'язують причину «французького парадоксу» з помірним вживанням червоного вина [8, 14, 15]. Кардіопротекторну дію червоного вина пояснюють наявністю значної кількості поліфенолів, стилбенив і флаванолів, які пригнічують синтез тромбоксанів, лейкотриєнів та тромбоутворення, стимулюють синтез ліпопротеїнів високої щільності та фібриноліз, інактивують супероксидні радикали та мають антиоксидантну і вазодилаторну дію [3, 13, 16]. Найбільш добре вивченими флаванолідами є ресвератрол і кверцетин. Кверцетин — відомий інгібітор ліпоксигенази, і тому значна частина його ефектів зумовлена цією властивістю [1, 2]. Ресвератрол — фітоалексин, який синтезується у винограді та інших рослинах у відповідь на інфекцію, ультрафіолетове опромінення та стреси [11, 17]. Значна кількість ресвератролу міститься в червоному вині, яке є основним джерелом його надходження в організм людини. Показано, що ресвератрол пригнічує агрегацію тромбоцитів та синтез тромбоксану, пригнічуючи експресію та синтез тканинного фактора [18] і цитокінів, зменшує ризик атеросклерозу та його ускладнень [12], попереджує канцерогенез, викликаючи апоптоз пухлинних клітин [7, 11]. Показана

© В. Ф. Сагач, Т. В. Шиманська, О. С. Зульфiгаров,
О. Г. Овчиннікова, А. І. Гоженко, 1999

здатність сполук, що входять до складу червоного вина, викликати ендотелій-залежну релаксацію гладеньких м'язів ізольованих препаратів різних судин [3, 5, 9].

Здатність стимулювати синтез оксиду азоту клітинами ендотелію і викликати вазорелаксацію виявлена також у ресвератролу і кверцетину [6, 10]. До того ж у високих концентраціях їх розслаблююча дія на судинні гладенькі м'язи спостерігалась і при відсутності ендотелію [6].

Мета нашої роботи показати, що сполуки, які синтезуються у винограді, можуть викликати вазорелаксацію не тільки ізольованих судинних препаратів, а також коронарного русла в умовах ізольованого серця морської свинки. Вперше також показана їх здатність стимулювати скоротливу активність міокарда.

Методика

Розчин з висушених та дрібно розмолотих ягід винограду (у співвідношенні 1/5) розділяли за допомогою тонкошарової хроматографії на фракції, які аналізували за допомогою високоефективної рідинної хроматографії.

Експерименти проводили на ізольованих серцях морських свинок масою 350–450 г. Перфузію коронарних судин здійснювали за допомогою методу Лангендорфа при постійному тиску та при температурі 37°C розчином наступного складу (у ммоль/л): NaCl — 118; KCl — 4,7; MgSO₄ — 1,2; NaHCO₃ — 24; KH₂PO₄ — 1,2; глюкоза — 10; CaCl₂ — 2,5. Перфузат аерували карбогеном (95% O₂ і 5% CO₂). Тиск у порожнині лівого шлуночка (Pp) вимірювали за допомогою введеного до нього латексного балончика вимірювачами 746 і реєстрували на багатоканальному полікардіографі «Мінгограф-82» (Єлема, Швеція). Про стан скоротливої функції лівого шлуночка судили за значеннями dp/dt_{max} і dp/dt_{min} . Об'ємну швидкість коронарного потоку вимірювали за об'ємом відтікаючої від ізольованого серця рідини за 1 хв. Електричну стимуляцію серця проводили з частотою 3 Гц. Напруження кисню у перфузійному розчині вимірювали за допомогою газоаналізатора BMS 3 Mk 2. Об'єм поглинання кисню розраховували за методом Neely. Екстракт, що виділяли з винограду, вводили внутрішньокоронарно у дозі 0,7 мг. Статистичну обробку даних проводили різницевою методом за допомогою критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Болюсне введення в коронарне русло ізольованого серця морської свинки розчину однієї з фракцій винограду (0,7 мг) супроводжувалося досить швидким підвищенням внутрішньошлуночкового тиску та показників скоротливої активності міокарда лівого шлуночка серця (рисунок). Внутрішньошлуночковий тиск підвищувався в середньому від $50,0 \pm 8,7$ до $81,6$ мм рт. ст. $\pm 10,8$ мм рт. ст. (таблиця). В той же час перша похідна внутрішньошлуночкового тиску dP/dt_{max} підвищувалася з 1268 ± 136 до 2244 мм рт. ст./с ± 244 мм рт. ст./с, що свідчило про досить значне збільшення під впливом екстракту винограду скоротливої активності міокарда. В такій же мірі введення екстракту винограду призводило до активізації процесів розслаблення міокарда, про що свідчило підвищення швидкості зниження тиску у лівому шлуночку з 796 ± 68 до 1344 мм рт. ст./с ± 156 мм рт. ст./с, тобто на 78%. Активізація процесів скорочення і розслаблення міокарда лівого шлуночка супроводжувалася збільшенням хвилинного

Pp
мм рт.ст.

10

dp/dt_{max}
мм рт.ст./с

500

dp/dt_{min}

Вплив

коронарного потоку збільшенням поглинання кисню $0,89$ ммоль \cdot год⁻¹ під впливом екстракту винограду гіперемії, так і резистентності судин до спазму. Введення препаратів [3, 6, 9] у коронарні артерії спостерігалось збільшення можна сподіватися на принаймні частковий ефект цієї фракції. Практично дію на судинні гладенькі м'язи вони стимулюють безпосередньо роз

Вплив екстракту винограду

Показник

Тиск у лівому шлуночку, мм рт. ст.
 dP/dt_{max} , мм рт. ст./с
 dP/dt_{min} , мм рт. ст./с
Коронарний потік, мл/хв

Споживання кисню, ммоль \cdot год⁻¹ \cdot г⁻¹

Примітка. В дужках

а, викликати ендотелій-
препаратів різних судин [3,

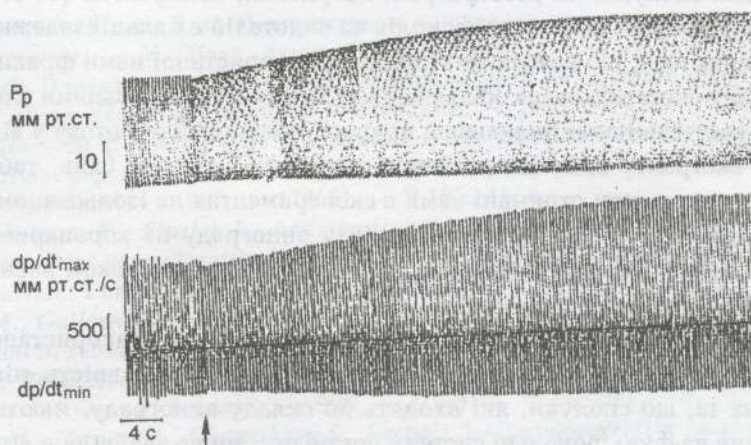
нами ендотелію і викли-
кверцетину [6, 10]. До
на судинні гладенькі м'я-

нтезуються у винограді,
их судинних препаратів,
я морської свинки. Впер-
ву активність міокарда.

граду (у співвідношенні
тографії на фракції, які
хроматографії.

морських свинок масою
допомогою методу Лан-
7°C розчином наступного
 $D_4 - 1,2$; $NaHCO_3 - 24$;
зат аерували карбогеном
точка (Pp) вимірювали за
вимірювачами 746 і реест-
раф-82» (Єлема, Швеція).
за значеннями dp/dt_{max}
вимірювали за об'ємом
ектричну стимуляцію сер-
у перфузійному розчині
2. Об'єм поглинання кис-
діляли з винограду, вводили
обробку даних проводили
ента.

ерця морської свинки роз-
жувалося досить швидким
азників скоротливої актив-
трішньошлуночковий тиск
м рт. ст. $\pm 10,8$ мм рт. ст.
уночкового тиску dp/dt_{max}
мм рт. ст./с, що свідчило
кту винограду скоротливої
кту винограду призводило
що свідчило підвищення
68 до 1344 мм рт. ст./с \pm
есів скорочення і розслаб-
збільшенням хвилиного



Вплив екстракту винограду на показники кардіодинаміки

коронарного потоку серця з $12,9 \pm 1,0$ до $14,6$ мл/хв $\pm 1,2$ мл/хв, а також збільшенням поглинання кисню тканинами міокарда на 30% — з $0,69 \pm 0,07$ до $0,89$ ммоль \cdot год $^{-1} \cdot$ г $^{-1} \pm 0,08$ ммоль \cdot год $^{-1} \cdot$ г $^{-1}$. Збільшення коронарного потоку під впливом екстракту винограду могло бути як проявом функціональної гіперемії, так і результатом безпосередньої розслаблюючої дії виноградних сполук на гладенькі м'язи коронарних судин. Враховуючи те, що з винограду дійсно виділені кілька сполук, які мають розслаблюючий вплив на ізольовані судинні препарати [3, 6, 9, 10], а також те, що ми в експериментах на ізольованій хвостовій артерії спостерігали аналогічний ефект під впливом застосованої нами фракції, можна сподіватись, що збільшення коронарного потоку ізольованого серця принаймні частково було зумовлено вазодилаторною дією сполук застосованої фракції. Практично всі описані виноградні сполуки, які мають релаксуючу дію на судинні гладенькі м'язи, опосередковують свій ефект ендотелієм. Тобто вони стимулюють синтез ендотеліальними клітинами оксиду азоту, який вже безпосередньо розслаблює гладенькі м'язи судин. Ендотелійзалежну дію мають

Вплив екстракту винограду на показники кардіодинаміки ізольованого серця морської свинки ($M \pm m$)

Показник	До введення екстракту	Після введення екстракту	L-NMMA	L-NMMA та введення екстракту
Тиск у лівому шлуночку, мм рт. ст.	$50,0 \pm 8,7$ (10)	$81,6^* \pm 10,8$ (10)	$57,6 \pm 10,0$ (5)	$84,8^* \pm 12,8$ (5)
dp/dt_{max} , мм рт. ст./с	1268 ± 136	$2244^* \pm 244$	1648 ± 112	$2520^* \pm 264$
dp/dt_{min} , мм рт. ст./с	796 ± 68	$1344^* \pm 156$	1010 ± 96	$1248^* \pm 128$
Коронарний потік, мл/хв	$12,9 \pm 1,0$	$14,6^* \pm 1,2$	$13,8 \pm 1,2$	$14,5 \pm 1,3$
Споживання кисню, ммоль \cdot год $^{-1} \cdot$ г $^{-1}$	$0,69 \pm 0,07$	$0,89^* \pm 0,08$	$0,31 \pm 0,05$	$0,39 \pm 0,01$

Примітка. В дужках — кількість дослідів, * $P < 0,01$.

такі виноградні сполуки, як ресвератрол, кверцетин, поліфеноли [3, 6, 9, 10]. Причому стимулюючий вплив поліфенолів на ендотелій є кальційзалежним [4]. Підтвердженням того, що вазодилаторна дія використаної нами фракції екстракту винограду опосередкована збільшенням синтезу ендотеліальними клітинами оксиду азоту свідчить також зменшення приросту коронарного потоку у відповідь на введення екстракту винограду після блокади NO-синтази (див. таблицю). Таким чином, результати отримані нами в експериментах на ізольованому серці відносно вазодилаторного впливу екстракту винограду на коронарне русло, збігаються з такими, що були отримані на ізольованих гладеньком'язових препаратах судин.

Представлені результати свідчать також про здатність використаної нами фракції екстракту винограду стимулювати скоротливу активність міокарда. Незважаючи на те, що сполуки, які входять до складу винограду, мають різноманітний вплив на функціональні системи організму, ми не знайшли в літературі даних про їх прямиий вплив на скоротливу активність міокарда. Останнім часом з'явилися свідчення про кардіопротективну дію проантоціанідину з кісточок винограду при ішемічно-реперфузійному ушкодженні серця [12]. Але цей ефект пов'язаний з антиоксидантною дією цих сполук та їх здатністю зменшувати оксидативний стрес, який спостерігається при ішемії-реперфузії.

Механізми кардіостимулюючої дії сполук з винограду ще недостатньо вивчені. Але той факт, що збільшення значень показників скоротливої активності міокарда після введення екстракту на 77 % супроводжувалося збільшенням поглинання кисню клітинами міокарда лише на 30 %, може свідчити про наявність у застосованих сполук кальційсенсibiliзуючих властивостей. Таке припущення можна зробити тому, що активація скоротливої активності сполуками, які посилюють скорочення міокарда збільшенням концентрації внутрішньоклітинного вільного кальцію супроводжується значно більшим поглинанням кисню тканинами.

Таким чином, отримані в дослідгах на ізольованому серці морської свинки результати свідчать про здатність сполук, що входять до складу винограду, стимулювати скоротливу активність міокарда і викликати ендотелійзалежну дилатацію коронарних судин. Ідентифікація сполук з указаною активністю та з'ясування їх механізму дії потребують подальших досліджень.

V. F. Sagach, T. V. Shimanskaya, J. S. Zulfigarov, O. G. Ovchinnikova,
A. I. Gozhenko

EFFECT OF GRAPE EXTRACT ON MYOCARDIAL CONTRACTILITY AND CORONARY FLOW OF ISOLATED GUINEA PIG HEART.

Effects of one of the fraction of grape extract on myocardial contractility and coronary flow of isolated guinea pig heart have been investigated. It was shown that the administration of grape extract led to myocardial contractility index increase by 77 %, coronary flow increase by 13 % and oxygen consumption increase by 30 %. Inhibition of nitric oxide synthesis by L-NMMA resulted in decrease of grape extract-induced coronary flow increase. These data support of isolated strips investigation that grape has a compounds which induced endothelium-dependent vasodilation of coronary bed. They indicate that these substances have the strong cardiostimulating effect.

A.A. Bogomolets Institute of Physiology,
National Academy of Science of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТ

1. Мойбенко А.А., дистой системы.
2. Сагач В.Ф. Влия генеза // Бюл.
3. Andriambeloson endothelium- Brit. J. Pharmac
4. Andriambeloson oxide-dependent J. Cardiovasc. P
5. Cishek M., Gallo relaxation in rab
6. Chen C., Pace-A rat aorta // Ge
7. Clement M., Hirp a natural produc human tumor cel
8. Constant J. Alcoh Dis. — 1997. —
9. Flesch M., Schwab vasorelaxation of — 275(4 Pt2) —
10. Jager U., Nguyn coronary arteries
11. Jang M., Cai L. natural product
12. Pendurthi U., wine, inhibits ti cardiovascular be Thromb. Vasc. B
13. Renaud S., De coronary heart d
14. Sato M., Mau proanthocyanidin 1999. — 31. — I
15. Schneider J., Ka disease // Herz.
16. Soleas G.J., Di production, and t P. 287-313.
17. Soleas G.J., Dia come? And gone?
18. Taubman M., Fal // Thromb. Hac
19. Visioli F., Gall disease: new find
20. Visioli F., Bellom // Biochem. Bio

Ин-т фізіології ім.
НАН України, Ки

іфеноли [3, 6, 9, 10]. кальційзалежним [4]. ої нами фракції екст-еліальними клітинами ого потоку у відповідь тази (див. таблицю). на ізольованому серці на коронарне русло, аденьком'язових пре-

сть використаної нами активність міокарда. нограду, мають різно-е знайшли в літературі карда. Останнім часом оціанідину з кісточок ця [12]. Але цей ефект здатністю зменшувати перфузії.

ду ще недостатньо ви-скоротливої активності ося збільшенням погли-ідчити про наявність у тей. Таке припущення сполуками, які посилю-рішньоклітинного віль-ням кисню тканинами. серці морської свинки до складу винограду, кати ендотеліязалежну казаною активністю та іджень.

O. G. Ovchinnikova,

AL CONTRACTILITY EA PIG HEART.

contractility and coronary d. It was shown that the ctility indexis increase by mption increase by 30%. a decrease of grape extract-olated strips investigation dependent vasodilation of e strong cardiostimulating

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Мойбенко А.А., Сагач В.Ф.* Иммуногенные нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы. — К.: Наук. думка, 1992. — 202 с.
2. *Сагач В.Ф.* Влияние блокады липо- и циклооксигеназы на развитие шока иммунного генеза // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1988 — № 4. — С. 7-10.
3. *Andriambeloson E., Kleschyov A., Muller B. et al.* Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta // Brit. J. Pharmacol. — 1997. — 120(6). — P.1053-1058.
4. *Andriambeloson E., Stoclet J., Andriansitohaina R.* Mechanism of endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat thoracic aorta // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1999. — P.248-254.
5. *Cishek M., Galloway M., Karim M. et al.* Effect of red wine on endothelium-dependent relaxation in rabbits // Clin. Sci. — 1997. — 93(6). — P. 507-511.
6. *Chen C., Pace-Asciak C.* Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta // Gen. Pharmacol. — 1996. — 27(2). — P. 363-366.
7. *Clement M., Hirpara J., Chawdhury S., Pervaiz S.* Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells // Blood. — 1998. — 92(3). — P. 996-1002.
8. *Constant J.* Alcohol, ischemic heart disease, and the French paradox // Coron. Artery Dis. — 1997. — 8(10). — P.645-649.
9. *Flesch M., Schwarz A., Bohm M.* Effect of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries // Amer. J. Physiol. — 1998. — 275(4 Pt2) — P. H1183-H1190.
10. *Jager U., Nguyen-Duong H.* Relaxant effect of trans-resveratrol on isolated porcine coronary arteries // Arzneimittelforschung. — 1999. — 49(3). — P. 207-211.
11. *Jang M., Cai L., Udeani G. et al.* Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grape // Science. — 1997. — 275(5297). — P. 218-220.
12. *Pendurthi U., Williams J., Rao V.* Resveratrol, a polyphenolic compound found in wine, inhibits tissue factor expression in vascular cells. A possible mechanism for the cardiovascular benefits associated with moderate consumption of wine // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.; — 1999. — 19. — P. 419-426.
13. *Renaud S., De Lorgeril M.* Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease // Lancet. — 1993. — 339. — P. 1523-1526.
14. *Sato M., Maulik G., Ray P.S. et al.* Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury // J. Mol. and Cell. Cardiol. — 1999. — 31. — P. 1289-1297.
15. *Schneider J., Kaffarnik H., Steinmetz A.* Alcohol, lipid metabolism and coronary heart disease // Herz. — 1996. — 21(4). — P. 217-226.
16. *Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M.* Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention // J. Clin. Lab. Anal. — 1997. — 11(5). — P. 287-313.
17. *Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M.* Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? // Clin. Biochem. — 1997. — 30(2) — P. 91-113.
18. *Taubman M., Fallon J., Schechter A. et al.* Tissue factor in pathogenesis of atherosclerosis // Thromb. Haemost. — 1997. — 78. — P. 200-204.
19. *Visioli F., Galli C.* The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings // Nutr. Rev. — 1998. — 56 (5 Pt1). — P. 142-147.
20. *Visioli F., Bellomo G., Galli C.* Free radical-scavenging properties of olive polyphenols // Biochem. Biophys. Res. Com. — 1998. — 247(1). — P. 60-64.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця
НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 3.09.99*