



УДК 615.256.4: 611-018.74

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭНДОТЕЛИО- И КАРДИОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА ИМПАЗА НА МОДЕЛЯХ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОЙ И ГИПЕРГОМОЦИСТЕИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

А.С. Белоус¹, А.А. Арустамова²

М.В. Покровский¹

С.А. Цепелева¹, В.И. Якушев¹

В.А. Руженков², М.В. Корокин¹

¹ Курский государственный
медицинский университет

² Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: a.s.belous@mail.ru

Моделирование L-NAME-индуцированного (внутрибрюшинным введением L-NAME в дозе 25 мг/кг) и гипергомоцистеин-индуцированного дефицита оксида азота с помощью внутрижелудочного введения метионина в дозе 3 г/кг в течение 7 дней у крыс приводило к развитию эндотелиальной дисфункции. В условиях этих моделей были выявлены выраженные эндотелиопротективные и кардиопротективные свойства препарата импаза.

Ключевые слова: импаза, эндотелий, оксид азота, метионин, L-Name.

Введение. Одним из ведущих патогенетических механизмов развития сердечно-сосудистого континуума является эндотелиальная дисфункция (ЭД) [2, 4]. В настоящее время приобретает особый интерес изучение потенцированных (приготовленных по гомеопатической технологии) антител к эндотелиальной NO-синтазе (eNOS), содержащихся в препарате «Импаза», для коррекции эндотелиальной дисфункции. Фирма ООО НПФ «Материа Медика Холдинг» позиционирует препарат «Импаза» как средство коррекции эректильной дисфункции. В то же время, мы предполагаем, что гомеопатически потенцированные антитела к eNOS могут быть эффективны при всех патологических состояниях сердечно-сосудистой системы, сопровождающихся эндотелиальной дисфункцией.

Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективных эффектов препарата импаза на моделях L-NAME-индуцированного и гипергомоцистеин-индуцированного дефицита оксида азота.

Методика исследования. Моделирование L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции осуществляли внутрибрюшинным введением N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг белым крысам-самцам линии Wistar, массой 250-300 г, в течение 7 дней [1].

Для моделирования гипергомоцистеин-индуцированной эндотелиальной дисфункции готовили раствор для внутрижелудочного введения метионина ex tempore с помощью солюбилизатора ТВИН-80 и 1% крахмального раствора, раствор с метионином (ООО «Полисинтез», г. Белгород) вводили ежедневно, 1 раз в сутки, внутрижелудочно, в дозе 3 г/кг, в течение 7 дней. В качестве сравнения была выделена дополнительная группа с введением 10% раствора ТВИН-80 в дозе 1 мл/кг ежедневно, 1 раз в сутки, в течение 7 дней, внутрижелудочно.

Фармакологическую коррекцию дефицита оксида азота осуществляли добавлением животным в поилку сверхмалых доз афинно очищенных антител к эндотелиальной NO-синтазе (импаза Материа-Медика, Россия) – из расчёта 1 таблетка на 100 мл воды со свободным доступом к питью, с учётом выпитой жидкости (20±3 мл в среднем на одно животное) [1].

В эксперименте были выделены следующие группы животных: 1) интактные самцы (вводили дистиллированную воду), 2) контрольная группа №1 (моделирование дефицита оксида азота внутрибрюшинным введением L-NAME в дозе 25 мг/кг в течение 7 дней), 3) L-NAME + импаза (коррекция L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции препаратом импаза), 4) внутрижелудочное введение 10% раствора



ТВИН-80 в дозе 1 мл/кг, 5) контрольная группа №2 (внутрижелудочное введение метионина в дозе 3 г/кг в течение 7 дней), 6) метионин + импаза (коррекция гипергомоцистеин-индуцированной эндотелиальной дисфункции препаратом импаза в течение 7 дней). Каждая группа состояла из 10 животных.

На 8-й день эксперимента под наркозом (этаминал натрия 50 мг/кг) на первом этапе исследования вводили катетер в левую сонную артерию и регистрировали систолическое и диастолическое артериальное давление (АД), частоту сердечных сокращений. На втором этапе исследования вводили иглу в полость левого желудочка через верхушку сердца для регистрации максимальной скорости сокращения (+dp/dt) и расслабления (-dp/dt). Измерения производились и обрабатывались посредством TSD104A и аппаратно-программного комплекса MP100 производства Biopac System, Inc., США.

Для изучения реактивности сосудистого русла при моделировании дефицита оксида азота регистрировали артериальное давление при эндотелийнезависимой и эндотелийзависимой вазодилатации. Эндотелийнезависимая вазодилатация осуществлялась посредством болюсного введения нитропрусида (НП) натрия (30 мкг/кг) в правую бедренную артерию [2], эндотелийзависимая – введением ацетилхолина (АХ) (40 мкг/кг) [8]. Далее высчитывали коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) по формуле: $KЭД = SAД\ NP / SAД\ AX$, где SAД НП – площадь треугольника над кривой восстановления АД, причём точками меньшего катета являются точка максимального падения АД и точка выхода уровня АД на плато при проведении функциональной пробы с введением нитропрусида, SAД АХ – площадь треугольника над кривой восстановления АД при проведении пробы с ацетилхолином, причём за меньший из катетов принимают разность между точкой окончания брадикардического кардиального компонента и точкой восстановления АД. Этот показатель отражает изменение реактивности сосудистого русла при моделировании дефицита оксида азота и позволяет оценить степень коррекции эндотелиальной дисфункции [6, 7]. Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных проводили нагрузочные пробы: проба на адренореактивность (внутривенное введение адреналина гидрохлорида 1×10^5 моль/л, в дозе 0,1 мл/100 г) [4], нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 с).

Достоверность изменений абсолютных параметров определяли разностным методом вариационной статистики с нахождением средних значений сдвигов (M), средней арифметической ($\pm m$) и вероятности возможной ошибки (p) по таблицам Стьюдента. Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$. Статистические расчёты проводились с использованием программы Microsoft Excel 7.0.

Результаты исследования. В группе с моделированием L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции выявлено развитие артериальной гипертензии. Ежедневное введение метионина по обозначенной схеме не вызывало достоверных изменений артериального давления. В группах животных, получавших импазу, не выявлено снижения показателей исходных значений АД (табл. 1).

Обработка полученных экспериментальных данных при проведении функциональных проб позволила установить, что внутрижелудочное введение 10% раствора ТВИН-80 в дозе 1 мл/кг не вызывает повышения КЭД.

В контрольных группах происходило увеличение соотношения эндотелийнезависимой к эндотелийзависимой вазодилатации, при этом КЭД составлял $5,4 \pm 0,6$ при введении L-NAME 25 мг/кг (контроль №1), $3,3 \pm 0,3$ в группе с гипергомоцистеин-индуцированным состоянием (контроль 2). В то время как у интактных крыс-самцов он составил $-1,1 \pm 0,1$. В группах животных, получавших импазу, КЭД приближался к значениям групп интактных животных и составил $-2,1 \pm 0,2$ (L-NAME + импаза) и $1,4 \pm 0,1$ (метионин + импаза) соответственно (табл. 1).

Полученные результаты свидетельствуют о коррекции эндотелиальной дисфункции препаратом импаза на двух моделях дефицита оксида азота при отсутствии существенного влияния на развитие артериальной гипертензии.



Таблица 1

Показатели артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции при моделировании и коррекции L-NAME- и гипергомоцистеин-индуцированного дефицита оксида азота

Группы животных	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст.	КЭД, у.е.
Интактные	137,7 ± 3,7	101,9 ± 4,3	1,1 ± 0,1
Получавшие L-NAME (25 мг/кг) 7 дней. (контроль №1)	190,3 ± 6,7 ^и	145,0 ± 3,9 ^и	5,4 ± 0,6 ^и
Получавшие L-NAME + импаза	184,3 ± 7,0 ^и	136,7 ± 6,5 ^и	2,1 ± 0,2 ^к
10 % ТВИН 80 1мл/кг	129,2 ± 4,3	82,4 ± 5,9 ^и	0,9 ± 0,2 ^к
Метионин 3 г/кг 1 раз/сутки в течение 7 дней (контроль – 2)	118,9 ± 10,1 ^и	76,6 ± 7,2 ^и	3,3 ± 0,3 [*]
Метионин 3 г/кг 1 раз/сутки в течение 7 дней+импаза	160,8 ± 5,1 ^и к	111,5 ± 4,5 ^и к	1,4 ± 0,1 ^к

Примечание: САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений, ^и – достоверное различие с группой интактных животных (p<0,05); ^к – достоверное различие с контрольной группой (p<0,05).

В контрольных группах животных при проведении пробы на адренореактивность левожелудочковое давление (ЛЖД) оказалось значительно выше 247,3±4,8 мм рт.ст. – контроль №1, 238,1±8,2 мм рт. ст. – контроль №2, чем в группе интактных животных 199,2±8,3 мм рт.ст.

Внутрижелудочное введение 10% раствора ТВИН-80 в дозе 1 мл/кг не вызывало повышения ЛЖД при проведении пробы на адренореактивность (189,7±9,1 мм рт. ст.).

Препарат импаза при проведении данной пробы снижал систолическое левожелудочковое давление до 211,1±10,2 и 208,3±12,4 мм рт. ст. в группах №3 и №6 соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Влияние препарата импаза на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных тестов при моделировании и коррекции L-NAME- и гипергомоцистеин-индуцированного дефицита оксида азота (M±m, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (мм рт.ст.)	Исчерпание миокардиального резерва (%)
Интактные	199,2±8,3	83,6 %
Получавшие L-NAME (25 мг/кг) 7 дней. (контроль №1)	247,3±4,8 ^и	66,0 % ^и
Получавшие L-NAME + импаза	211,1±10,2 ^к	82,9 % ^к
10 % ТВИН 80 1мл/кг	189,7±9,1 ^к	85,4% ^к
Метионин 3 г/кг 1 раз/сутки в течение 7 дней. (контроль – 2)	238,1±8,2 ^и	69,8% ^и
Метионин 3 г/кг 1 раз/сутки в течение 7 дней+импаза	208,3±12,4 ^к	85,8% ^к

Примечание: ^и – достоверное различие с группой интактных животных (p<0,05); ^к – достоверное различие с контрольной группой (p<0,05).

В пробе на нагрузку сопротивлением рассчитывался показатель исчерпания миокардиального резерва, равный отношению прироста систолического левожелудочкового давления на 5 с пережатия аорты к приросту систолического левожелудочкового давления на 25 с, выраженный в процентах.



В группе интактных животных этот показатель составил 83,6 %, в контрольных группах (группы №2 и №5) 66,0 % и 69,8%. У животных, получавших препарат импаза (группы №3 и №6), данный показатель достоверно отличался от контрольных групп и был близок к значениям у интактных животных – 82,9 % и 85,8% соответственно.

Таким образом, результаты исследования функционального состояния миокарда при проведении нагрузочных проб выявили отчетливое кардиопротективное действие препарата импаза как при моделировании L-NAME-индуцированной так и при гипергомоцистеин-индуцированной эндотелиальной дисфункции, проявляющееся в снижении адренореактивности, предотвращении падения систолического левожелудочкового давления при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с контрольными животными.

Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать данный препарат к широкому клиническому изучению у мужчин.

Литература

1. Белоус, А. С. Новый взгляд на коррекцию эндотелиальной дисфункции / А.С. Белоус, М.В. Покровский, В.И. Кочкаров и др. // Russian Journal of Immunology (Official Journal of Russian Society of Immunology): материалы Рос. науч.-практ. конф. «Современные технологии в иммунологии: иммунодиагностика и иммунотерапия». – Курск, 2006. – С. 59-63.
2. Галаган, М. Е. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо-и эндогенных источников / М.Е. Галаган, А.В.Широколова, А.Ф. Ванин // Вопр. мед. химии. – 1991. – Т. 37, № 1. – С. 67-70.
3. Затейщикова, А. А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение / А.А.Затейщикова, Д.А. Затейщиков // Кардиология. – 1998. – Т. 38, № 9. – С. 68-80.
4. Зодионченко, В. С. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия: терапевтические возможности / В.С. Зодионченко, Т.В.Адашева, А.П. Сандомирская // Рус. мед. журн. – 2002. – №1. – С. 11-15.
5. Минушкина, Л. О. Генетические аспекты регуляции эндотелиальной функции при гипертензии / Л.О.Минушкина, Д.А.Затейщиков, Б.А. Сидоренко // Кардиология. – 2000. – № 3. – С. 68-76.
6. Покровский, М. В. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте / М.В.Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г.Покровская и др. // Кубанский научно-медицинский вестник. – 2006. – №10. – С.72-77.
7. Покровский, М. В. Способ оценки эндотелиальной дисфункции Пат. 2301015 Российская Федерация, МПК7 А61В 5/02. / заявители и патентообладатели Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. – № 2005113243/14; заявл. 04.05.2005; опубл. 20.06.07, Бюл. № 17. – 7 с.: ил.
8. Laursen, J. B., Rajagopalan S., Galis Z. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension/ J. B. Laursen, S. Rajagopalan, Z.Galis // Circulation. – 1997. – Vol. 95. – P. 588-593.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF ENDOTHELIO- AND CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF IMPAZA ON L-NAME – INDUCED AND HYPERHOMOCYSTEINE – INDUCED MODELS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

**A.S. Belous¹, A.A. Arustamova²
M.V. Pokrovsky¹
S.A. Cepeleva¹, V.I. Yakushev¹
V.A. Ruzhenkov², M.V. Korokin¹**

¹ *Kursk State Medical University*

² *Belgorod National Research University*

e-mail: a.s.belous@mail.ru

Modeling of L-NAME-induced (intra-abdominal introduction of L-NAME in a dose of 25 mg/kg) and the hyperhomocysteine -induced deficiency of nitrogen oxide II by means of intragastric introduction of methionine in a dose of 3 g/kg within 7 days on rats led to development of endothelial dysfunction. In the conditions of these models have been revealed expressed endothelio- and cardioprotective properties of a preparation impaza.

Key words: impaza, endothelium, nitrogen oxide II, methionine, L-Name.