



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 615.256.4: 611-018.74

ОЦЕНКА КОРРЕКЦИИ L-NAME И ГИПОЭСТРОГЕН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРЕПАРАТОМ ИМПАЗА

**А.С. Белоус¹, А.А. Арустамова²
М.В. Покровский¹, М.В. Корокин¹
О.С. Гудырев¹, В.С. Белоус¹**

*¹ Курский государственный
медицинский университет*

*² Белгородский государственный
университет*

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

Моделирование L-Name (внутрибрюшинное введение N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-Name) в дозе 25 мг/кг) и гипоэстроген-индуцированного дефицита оксида азота с помощью билатеральной овариэктомии у крыс приводило к развитию артериальной гипертензии и эндотелиальной дисфункции. В условиях этих моделей были выявлены выраженные эндотелиопротективные и кардиопротективные свойства препарата импаза.

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

Введение. В современном мире артериальная гипертензия (АГ) является одним из основных факторов, повышающих инвалидизацию и смертность за счет таких грозных осложнений, как инфаркт миокарда, сердечная недостаточность и инсульт [4, 6]. В России распространенность АГ среди взрослого населения превышает 30 %. Наша страна занимает одно из первых мест в Европе по смертности от инсультов и ИБС [2, 3]. Одной из основных причин АГ является эндотелиальная дисфункция (ЭД) и в первую очередь – нарушение релаксационных свойств эндотелия [1, 7, 8, 11, 12].

Одним из возможных направлений в создании методов фармакологической коррекции артериальной гипертензии может явиться целенаправленное фармакодинамическое воздействие на коррекцию эндотелиальной дисфункции.

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

Методика исследования. Для моделирования L-Name индуцированной эндотелиальной дисфункции осуществляли внутрибрюшинное введение 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, для моделирования гипоэстроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции белых крыс самок линии Wistar массой 250-300 г. наркотизировали этаминалом натрия (50 мг/кг) и проводили билатеральную овариэктомию.

Импазу (сверхмалые дозы антител к эндотелиальной NO-синтазе, смесь гомеопатических разведений C12+C30+C200, производства ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг», Россия) разводили в поилках из расчёта 1 таблетка на 100 мл воды. Крысы получали импазу в свободном доступе к питью с учётом объема потребляемой жидко-



сти 20 ± 3 мл/животное/сут. Группа с моделью дефицита оксида азота являлась контрольной. В исследовании использовалась так же группа интактных животных.

На модели L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции импазу вводили в течение 7 дней.

На модели гипоэстроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции после проведения билатеральной овариэктомии в течение 42 дней проводили фармакологическую коррекцию дефицита оксида азота введением импазы.

На 8 (на модели L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции) и на 43 (на модели гипоэстроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции) 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 нитропруссид натрия (30 мкг/кг) в правую бедренную артерию, эндотелийзависимая – введением ацетилхолина (40 мкг/кг) [5]. Далее высчитывали коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) по формуле: $KЭД = SAД_{HP} / SAД_{AX}$, где SAД HP – 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 нитропруссид, SAД AX – 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 [9, 10].

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) [7], 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. Блокада NO-синтазы при введении L-NAME вызывала развитие выраженной артериальной гипертензии.

В контрольной группе (крысы самцы) на фоне введения L-NAME происходило увеличение соотношения эндотелийнезависимой к эндотелийзависимой вазодилатации, при этом КЭД составлял $5,4 \pm 0,6$, в то время как у интактных крыс (самцы) он составил – $1,1 \pm 0,1$. В группе животных, получавших импазу, КЭД приближался к значениям в группе интактных животных и составил – $2,1 \pm 0,2$. (табл. 1).

На 43 сутки после проведения билатеральной овариэктомии у экспериментальных животных так же было выявлено развитие артериальной гипертензии (табл. 2).

В контрольной группе (крысы самки) происходило увеличение соотношения эндотелийнезависимой к эндотелийзависимой вазодилатации, при этом КЭД составлял $2,1 \pm 0,2$, в то время как у интактных крыс (самки) он составил – $0,8 \pm 0,11$. В группе



животных, получавших импазу, КЭД приближался к значениям в группе интактных животных и составил – $1,1 \pm 0,1$. (табл. 2).

Таблица 1

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

Группы животных	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст.	ЧСС, уд. в мин.	КЭД, у.е.
Интактные (крысы самцы)	$137,7 \pm 3,7^y$	$101,9 \pm 4,3^y$	$420,0 \pm 9,0$	$1,1 \pm 0,1^y$
Получавшие L-NAME (25 мг/кг) 7 дней (крысы самцы)	$190,3 \pm 6,7^*$	$145,0 \pm 3,9^*$	$428,0 \pm 11^*$	$5,4 \pm 0,6^{*y}$
Получавшие L-NAME + импаза (крысы самцы)	$184,3 \pm 7,0^*$	$136,7 \pm 6,5^*$	$417,1 \pm 13,1$	$2,1 \pm 0,2^{**}$

Примечание: САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений, * – достоверное различие с группой интактных животных ($p < 0,05$); ** – достоверное различие с контрольной группой ($p < 0,05$), y – достоверное различие с группой введения импазы ($p < 0,05$).

Таблица 2

Показатели артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции при моделировании и коррекции гипоэстроген-индуцированного дефицита оксида азота

Группы животных	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст.	ЧСС, уд. в мин.	КЭД, у.е.
Интактные (крысы самки)	$128,1 \pm 6,0^y$	$95,7 \pm 4^y$	$401,0 \pm 8,0$	$0,8 \pm 0,11^y$
Гипоэстрогенное состояние (контроль) (крысы самки)	$160,0 \pm 6,2^*$	$124,9 \pm 5,5^*$	$385,0 \pm 13,0$	$2,1 \pm 0,2^{*y}$
Гипоэстрогенное состояние + импаза (крысы самки)	$158,5 \pm 15,0^*$	$120,7 \pm 9,9^*$	$377,9 \pm 18,0$	$1,1 \pm 0,1^{**}$

Примечание: САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений, * – достоверное различие с группой интактных животных ($p < 0,05$); ** – достоверное различие с контрольной группой ($p < 0,05$), y – достоверное различие с группой введения импазы ($p < 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о коррекции L-Name и гипоэстроген-индуцированного дефицита оксида азота препаратом импаза, при отсутствии существенного влияния на развитие артериальной гипертензии. Так же следует отметить, что применение препарата импаза в обоих случаях приближало КЭД к значениям в группе интактных животных.

На модели L-NAME индуцированного дефицита оксида азота при проведении пробы на адренореактивность в контрольной группе животных систолическое левожелудочковое давление оказалось значительно выше ($247,3 \pm 4,8$ мм рт. ст.) чем в группе интактных животных ($199,2 \pm 8,3$ мм рт. ст.). Препарат импаза снижал систолическое левожелудочковое давление до $211,1 \pm 10,2$ мм рт. ст. (табл. 3).

На модели гипоэстроген-индуцированного дефицита оксида азота при проведении пробы на адренореактивность в контрольной группе животных систолическое левожелудочковое давление так же оказалось значительно выше ($243,2 \pm 6,4$ мм рт. ст.), чем в группе интактных животных ($203,3 \pm 12,6$ мм рт. ст.). Препарат импаза при проведении данной пробы снижал систолическое левожелудочковое давление до $177,9 \pm 9,2$ мм рт. ст. (табл. 4).



Таблица 3

Влияние препарата импаза на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования L-NAME индуцированного дефицита оксида азота (M±m, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (мм рт.ст.)	Исчерпание миокардиального резерва (%)
Интактные самцы	199,2±8,3	83,6 %
L-NAME 25 мг/кг	247,3±4,8*	66,0 %*
L-NAME + импаза (крысы самцы)	211,1±10,2**	82,9 %**

Примечание: * – достоверное различие с группой интактных животных (p<0,05); ** – достоверное различие с контрольной группой (p<0,05), y – достоверное различие с группой введения импазы (p<0,05).

Таблица 4

Влияние препарата импаза на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования гипоестроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции (M±m, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (мм рт.ст.)	Исчерпание миокардиального резерва (%)
Интактные самки	203,3±12,6 ^y	88,7%
Гипоестрогенное состояние	243,2±6,4* ^y	67,9%* ^y
Гипоестрогенное состояние + импаза (крысы самки)	177,9±9,2**	91,6%**

Примечание: * – достоверное различие с группой интактных животных (p<0,05); ** – достоверное различие с контрольной группой (p<0,05), y – достоверное различие с группой введения импазы (p<0,05).

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

На модели L-NAME индуцированного дефицита оксида азота в контрольной группе этот показатель составил – 66,0%, в группе интактных животных 83,6%, У животных, получавших препарат импаза данный показатель достоверно отличался от контрольной группы и был близок к значениям у интактной группы (82,9 %).

На модели гипоестроген-индуцированного дефицита оксида азота в контрольной группе этот показатель составил – 67,9%, в группе интактных животных 88,7%. У животных, получавших препарат импаза, данный показатель достоверно отличался от контрольной группы и так же был близок к значениям у интактной группы (91,6%).

Таким образом, результаты исследования функционального состояния миокарда при проведении нагрузочных проб выявили отчетливое кардиопротективное действие импазы на модели L-Name и гипоестроген-индуцированного дефицита оксида азота, выражающееся в снижении адренореактивности, предотвращении падения систолического левожелудочкового давления при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с контрольными животными.

Проведенные исследования обнаружили, что препарат импаза на модели L-Name и гипоестроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции обладает эндотелио- и кардиопротективными свойствами.

Результаты исследования позволяют рекомендовать препарат импаза к широкому клиническому изучению у мужчин и у женщин (в постменопаузальный период).

Литература

1. Бабак, О.Я. Артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца – эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса / О.Я. Бабак, Ю.Н. Шапошникова, В.Д. Немцова // Украинський терапевтичний журн. – 2004. – №1. – С. 14-21.



2. Бажин, М.Н. Уральская кардиологическая концепция: Новое в изучении гипертонической болезни: дайджест / М.Н. Бажин. – В. Пышма: МО В.Пышма, 2000.-51 с.
3. Беленков, Ю.Н. Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента в лечении сердечно-сосудистых заболеваний (Квинаприл и эндотелиальная дисфункция) / Ю.Н. Беленков, В.Ю. Мареев, Ф.Т. Агеев. – М.: ООО "Инсайт полиграфик", 2002. – 86 с.
4. Беленков, Ю.Н. Российское исследование по оптимальному снижению артериального давления (РОСА 2): два года наблюдения. Что в итоге? / Ю.Н. Беленков И.Е. Чазова, Л.Г. Ратова // Кардиоваскуляр. терапия и профилактика. – 2005. – №6, ч. 1. – С. 4-14.
5. Галаган, М.Е., Широколова А.В., Ванин А.Ф. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо-и эндогенных источников// Вопр. мед. химии.- 1991. – Т. 37, № 1. – С. 67-70.
6. Гогин, Е.Е. Гипертоническая болезнь / Е.Е. Гогин – М.: Медицина, 1996 – 400 с.
7. Зодионченко, В.С., Адашева Т.В., Сандомирская А.П. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертония: терапевтические возможности / В.С. Зодионченко // Рус. мед. журн. – 2002. – №1. – С. 11-15.
8. Насонов, Е.Л. Маркеры активации эндотелия (тромбомодулин, антиген фактора Виллебранда и ангиотензинпревращающий фермент): клиническое значение / Е.Л. Насонов, А.А. Баранов, Н.П. Шилкина // Клинич. медицина. – 1998. – Т. 70, №11. – С. 4-10.
9. 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. Краснодар, 2006. №10. С.72-77.
10. Патент С 2 2301015 RU А 61 В5/02. Способ оценки эндотелиальной дисфункции / Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. – № 2005113243/14; Заявл. 04.05.2005/17 Изобретения (Заявки и патенты). – 2007. – №17.
11. Orallo, F. The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption / F. Orallo, E. Álvarez, M. Camiña // Mol. Pharmacol. – 2002 – Vol. 61 – P. 294–302.
12. Shimokawa, H. Primary endothelial dysfunction: Atherosclerosis / H. Shimokawa // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1999. – Vol. 31. – P. 23–37.

CORRECTION OF L-NAME AND HYPOESTROGEN-INDUCED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION BY A PREPARATION IMPAZA

**A.S. Belous¹, A.A. Arustamova²
M.V. Pokrovsky¹, M.V. Korokin¹
O.S. Gudyrev¹, V.S. Belous¹**

¹⁾ *Kursk State
Medical University*

²⁾ *Belgorod
State University*

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

Modelling of L-Name (intraperitoneal introduction N-nitro-L-arginine methyl ether (L-NAME) unit-dose 25 mg/kg) and deficiency of hypoestrogen-induced nitrogen oxide by means of bilateral ovariectomy at rats led to development of an arterial hypertension and endothelial dysfunction. In the conditions of this model have been revealed expressed endothelioprotective and cardioprotective properties of a preparation impaza.

Key words: impaza, endothelium, nitrogen oxide, bilateral ovariectomy, L-Name.