

ЭНДОТЕЛИО- И КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА СВЕРХМАЛЫХ ДОЗ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ КРОЛИЧЬИХ АНТИТЕЛ К eNOS НА 28-ДНЕВНОЙ МОДЕЛИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

А.С. БЕЛОУС

*Курский государственный
медицинский университет*

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

Моделирование L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота (внутрибрюшинным введением L-NAME в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней) у крыс приводило к развитию эндотелиальной дисфункции. В условиях этой модели были выявлены выраженные эндотелиопротективные и кардиопротективные свойства сверхмалых доз поликлональных кроличьих антител к eNOS.

Ключевые слова: eNOS, эндотелий, оксид азота, L-Name.

Современные исследования доказали, что эндотелиальная дисфункция (ЭД) является обязательным компонентом патогенеза практически всех сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз, гипертонию, ишемическую болезнь сердца (ИБС), хроническую сердечную недостаточность. ИБС и артериальная гипертензия (АГ) являются одними из основных факторов, повышающих инвалидизацию и смертность за счёт таких осложнений, как инфаркт миокарда, сердечная недостаточность и инсульт [2, 4, 5]. В настоящее время приобретает особый интерес изучение сверхмалых доз (приготовленных по гомеопатической технологии) антител к эндотелиальной NO-синтазе (eNOS), содержащихся в препарате «Импаса» для коррекции эндотелиальной дисфункции.

Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективных эффектов сверхмалых доз поликлональных кроличьих антител к eNOS на 28-дневной модели L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота.

Методика исследования. Моделирование дефицита оксида азота осуществляли внутрибрюшинным введением N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней (n=10 животных). Одновременно в течение 28 дней в группе из 10 животных проводили фармакологическую коррекцию дефицита оксида азота введением раствора сверхмалых доз антител к эндотелиальной NO-синтазе, внутривенно из расчёта 9 мл/кг/сут. (ежедневно в дозе 4,5 мл/кг 2 раза в сутки в течение 28 дней через 30 минут после введения L-NAME).

В эксперименте были выделены следующие группы животных: 1) интактные самцы (вводили дистиллированную воду); 2) контрольная группа (моделирование дефицита оксида азота внутрибрюшинным введением L-NAME в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней); 3) L-NAME + сверхмалые дозы антител к эндотелиальной NO-синтазе.

На 29-й день эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 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 и расслабления. Измерения производились и обрабатывались посредством датчика 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 [1], эндотелийзависимая – введением ацетилхолина (АХ) (40 мкг/кг) [8]. Далее высчитывали коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) по формуле: $KЭД = САД_{НП} / САД_{АХ}$, где САД 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, САД 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: пробу на адренореактивность (внутривенное введение адреналина гидрохлорида 1×10^5 моль/л, в дозе 0,1 мл/100 г) [3], нагрузку 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. В группе животных, получавших сверхмалые дозы поликлональных кроличьих антител к eNOS, не выявлено снижение показателей исходных значений АД (табл. 1).

В контрольной группе на фоне введения L-NAME происходило увеличение соотношения эндотелийнезависимой к эндотелийзависимой вазодилатации, при этом КЭД составлял $3,5 \pm 0,5$, в то время как у интактных крыс он составил $1,2 \pm 0,1$. В группе животных, получавших сверхмалые дозы антител к эндотелиальной NO-синтазе, КЭД составил $1,8 \pm 0,2$ (табл. 1).

Полученные результаты свидетельствуют о коррекции эндотелиальной дисфункции раствором сверхмалых доз антител к eNOS на модели L-NAME-индуцированного 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-индуцированного дефицита оксида азота ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст.	КЭД
Интактные	$139,2 \pm 5,4$	$104,2 \pm 4,7$	$1,2 \pm 0,1$
Получавшие L-NAME (12,5 мг/кг) 28 дней (контроль)	$204,8 \pm 10^*$	$164,2 \pm 5,9^*$	$3,5 \pm 0,5^{\text{и}}$
Получавшие L-NAME + сверхмалые дозы антител к eNOS	$201,1 \pm 6,7$	$163,1 \pm 6$	$1,8 \pm 0,2^{\text{к}}$

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

При проведении пробы на адренореактивность в контрольной группе животных систолическое левожелудочковое давление оказалось значительно выше ($281,1 \pm 6,5$ мм рт. ст.) чем в группе интактных животных ($199,8 \pm 9,9$ мм рт. ст.). Введение сверхмалых доз поликлональных кроличьих антител к eNOS снижало систолическое левожелудочковое давление до $239,4 \pm 19,2$ мм рт. ст. (табл. 2).



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.

Таблица 2

Влияние сверхмалых доз поликлональных кроличьих антител к eNOS на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции (M±m, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (мм рт.ст.)	Истощение миокардиального резерва (%)
Интактные	199,8±9,9	93,9 %
Получавшие L-NAME (12,5 мг/кг) 28 дней. (контроль)	281,1±6,5 ^н	67,5 % ^н
Получавшие L-NAME + сверхмалые дозы антител к eNOS	239,4±19,2 ^к	105,6 % ^к

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

В группе интактных животных этот показатель составил 93,9%, в контрольной группе – 67,5%. У животных, получавших сверхмалые дозы поликлональных кроличьих антител к eNOS, данный показатель не только достоверно отличался от контрольной группы, но и превосходил значения у интактной группы (105,6 %).

Таким образом, результаты исследования функционального состояния миокарда при проведении нагрузочных проб выявили отчетливое кардиопротективное действие сверхмалых доз поликлональных кроличьих антител к eNOS, выражающееся в снижении адренореактивности, падении систолического левожелудочкового давления при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с контрольными животными.

Проведенные исследования обнаружили, что сверхмалые дозы поликлональных кроличьих антител к eNOS обладают эндотелио- и кардиопротективными свойствами.

Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать дальнейшее клиническое изучение сверхмалых доз поликлональных кроличьих антител к eNOS для коррекции эндотелиальной дисфункции. Перспективным является изучение данного раствора сверхмалых доз антител в комбинации с классическими антигипертензивными препаратами.

Литература

1. 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. 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. Пат. 2301015 Российская Федерация, МПК⁷ А61В 5/02. Способ оценки эндотелиальной дисфункции / Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. и др.; заявители и патентообладатели Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. – № 2005113243/14; заявл. 10.1.2006; опубл. 20.06.07, Бюл. № 17. – 7 с.: ил.

8. Laursen, J.B. 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.

ENDOTHELIAL AND CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF ULTRA-LOW DOSES OF POLYCLONAL RABBIT ANTIBODY TO ENOS IN THE 28-DAY MODEL OF L-NAME-INDUCED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

A.S. BELOUS

Kursk State Medical University

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

Modelling of L-NAME – induced deficiency of nitric oxide (intraperitoneal administration of L-NAME at a dose of 12.5 mg / kg for 28 days) in rats led to the development of endothelial dysfunction. In this model marked cardioprotective and endothelioprotective properties of ultra-low doses of polyclonal rabbit antibody to eNOS have been identified.

Key words: eNOS, endothelial cells, nitric oxide, L-Name.