



УДК 615.256.4: 611-018.74

## ОЦЕНКА КОРРЕКЦИИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ СВЕРХМАЛЫМИ ДОЗАМИ АНТИТЕЛ К ENOS НА 28-ДНЕВНОЙ МОДЕЛИ L-NAME ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

**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 гипертрофии миокарда и мышечного слоя сосудистой стенки, ишемии почек с типичными для данного состояния изменениями. В условиях этой модели обнаружен протективный эффект импазы, выражающийся в предотвращении увеличения поперечного диаметра миокардиоцитов и более благоприятной картины морфологических изменений в почках.

Ключевые слова: импаза, эндотелий, оксид азота, L-NAME.

В патогенезе и клинике артериальной гипертензии, атеросклероза, сахарного диабета и их осложнений одним из важных аспектов считается нарушение структуры и функции эндотелия [2, 5].

Клетки эндотелия секретируют вазоактивные вещества, в том числе: вазодилататоры (NO, эндотелиальный гиперполяризующий фактор, простаглицлин) и вазоконстрикторы (АТ II, эндотелин, свободные радикалы недоокисленных жирных кислот, простагландин F<sub>2</sub>альфа и тромбоксан А<sub>2</sub>), причем секреция вазодилататоров и вазоконстрикторов в норме находится в состоянии динамического равновесия [3]. Наиболее важным вазодилататором считается оксид азота.

Препарат импаза представляет собой препарат, содержащий сверхмалые дозы антител к эндотелиальной NO-синтазе. Известны эндотелиопротекторные свойства сверхмалых доз антител к эндотелиальной NO-синтазе [1, 4], что является важным для профилактики и лечения сосудистых осложнений.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение влияния импазы на развитие морфологических изменений сердечнососудистой системы в результате моделирования эндотелиальной дисфункции введением L-NAME в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 30 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250-300 г. Животные были разделены на 3 группы по 10 животных в группе. Группа №1 - интактные животные; группа №2 - с моделированием дефицита оксида азота внутрибрюшинным введением раствора N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней. Группа №3 - с моделированием дефицита оксида азота (дозы и способ введения L-NAME аналогичны группе №2) и одновременное, в течение 28 дней, введение импазы. Импазу (сверхмалые дозы антител к эндотелиальной NO-синтазе, производства ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг», Россия) вводили 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). Группа с моделью дефицита NO являлась контрольной.

На 29 день эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) для морфологического исследования после выведения животных из эксперимента производили забор материала органов: сердце, почки, надпочечники, участки сонных артерий и брюшной аорты, участок мышцы голени. Материал фиксировали в 10% растворе формалина. После фиксации производили вырезку кусочков для гистологического исследования по следующим методикам. Сердца рассекали через середину во фронтальной плоскости через все отделы в виде пластин толщиной 2 мм, в которых содержались оба предсердия, правый и левый желудочки, межжелудочковая перегородка. Кусочки почек вырезали в поперечном направлении строго через центральную часть, включающую почечный сосочек. Материал был фиксирован, вырезан и залит в парафин в одни сроки. Заливку в парафин осуществляли одновременно в автомате карусельного типа STP-120 (Microm Int. GmbH, Германия). Кусочки из одной серии эксперимента заливали в парафин в виде одного блока (по 4-6 кусочков) на станции ЕС-350 (Microm Int. GmbH, Германия), что позволяло достигать максимальной стандартизации условий предварительной обра-

ботки и последующего изготовления гистологических срезов на полуавтоматическом микротоме с системой транспортировки срезов ЕС-340.

Окраску срезов гематоксилином и эозином производили также в автоматическом режиме в автостейнере HMS 740 (Microm Int. GmbH, Германия). Для последующего анализа морфологических изменений и морфометрии микропрепараты сканировали на системе для архивирования и анализа изображений MiraxDesk (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). Определяли диаметры кардиомиоцитов левого желудочка, кровеносных сосудов, в почках измеряли диаметры почечных клубочков.

Просмотр, анализ и морфометрию осуществляли с помощью программы просмотра и анализа изображений Mirax Viewer 1.12. Достоверность различий между группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Для статистической оценки полученных данных использовали методы параметрической статистики. Значимость различий между группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок. Достоверными считали различия между сравниваемыми значениями с уровнем значимости 95% ( $p < 0,05$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Изменения, характерные для L-NAME-индуцированной артериальной гипертензии, выявлены и при морфологическом исследовании почек, сердца и сосудов (рис. 1). На 29-е сутки эксперимента в группе с введением L-NAME наблюдались выраженные изменения миокарда. Сердце макроскопически с плотными стенками, абсолютная и относительная масса его увеличены до  $1047 \pm 95$  мг (у интактных животных  $930 \pm 50$  мг) и  $3,79$  мг/г соответственно. Наблюдалась равномерная гипертрофия стенок желудочков, гипертрофия кардиомиоцитов левого желудочка до  $15,14 \pm 0,33$  мкм (у интактных животных  $9,91 \pm 0,17$  мкм), сосудистые изменения в виде спастического состояния артериол, утолщения их стенок. При окраске гематоксилином Рого выявлялись очаговые сегментарные или тотальные повреждения кардиомиоцитов контрактурного типа.

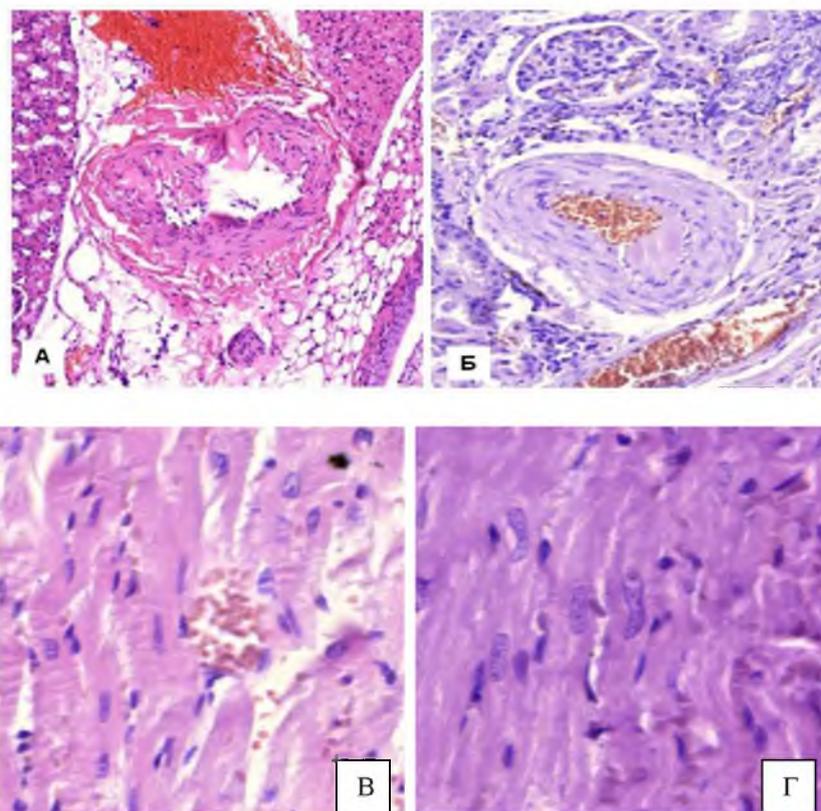
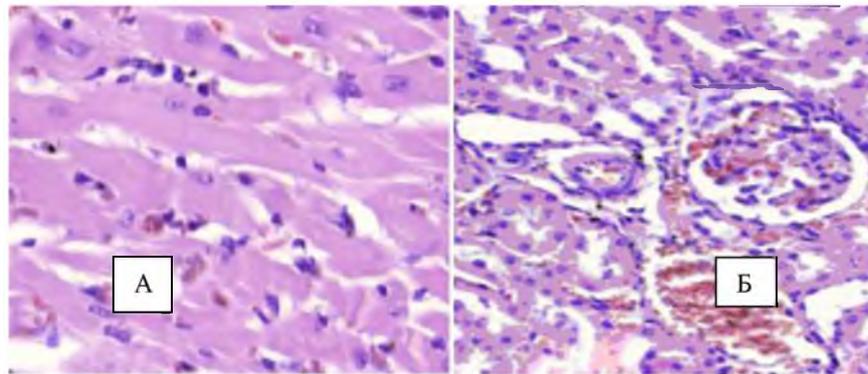


Рис. 1. Морфология миокарда и крупных почечных артерий у интактных животных и с моделированием эндотелиальной дисфункции: А – неизменная артерия почки у интактной крысы; Б – перестройка стенки почечной артерии с резким утолщением ее стенки и сужением просвета, гиперплазией эластических структур и гипертрофией гладкомышечных элементов у крысы с артериальной гипертензией в группе с введением L-NAME. В – гистологическая картина миокарда у интактных крыс на поперечном срезе; Г – гипертрофия кардиомиоцитов и их ядер у крысы с артериальной гипертензией в группе с введением L-NAME, на поперечном срезе. Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото х400



*Рис. 2.* Морфология миокарда и крупных почечных артерий у животных с коррекцией эндотелиальной дисфункции исследуемыми препаратами. А– гистологическая картина миокарда у крыс с коррекцией импазой на поперечном срезе; Б – гистологическая картина крупных почечных артерий у крыс с коррекцией импазой на поперечном срезе. Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото х400

При микроскопии в ишемизированных почках выявлены типичные для данного состояния изменения. Наблюдались клиновидные участки некроза, атрофии паренхимы с коллапсом стромы, ее лимфоидной инфильтрацией. Выраженные диффузные изменения почечных телец в виде сморщивания, гиалиноза и склероза, гиалиноз и склероз артерий. Эпителий канальцев уплощен, на значительных участках десквамирован. Практически все канальцы заполнены плотными гиалиновыми цилиндрами.

Исследуемый препарат статистически достоверно предотвращал увеличение поперечного диаметра миокардиоцитов. В группе дополнительным введением импазы – диаметр кардиомиоцитов составил - 10,5 мкм (рис. 2).

В группах животных с введением импазы обнаруживалась более благоприятная картина морфологических изменений в почках. Клубочки и канальцевый эпителий нефронов патологических изменений не имели, в единичных случаях наблюдалось умеренное расширение канальцев, в просвете единичных канальцев имелись гиалиновые цилиндры. Соединительнотканная строма без воспалительных инфильтратов и рубцов. Эпителий лоханок был не изменен.

Проведенные исследования обнаружили протективный эффект импазы, выражающийся в предотвращении увеличения поперечного диаметра миокардиоцитов и более благоприятной картиной морфологических изменений в почках.

Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать дальнейшее клиническое изучение импазы для коррекции эндотелиальной дисфункции Перспективным является изучение данного препарата в комбинации с классическими антигипертензивными препаратами.

### Литература

1. Белоус А.С. Коррекция эндотелиальной дисфункции препаратом импаза в комплексе с эналаприлом и лозартаном при моделировании дефицита оксида азота / Белоус А.С., Покровский М.В., Покровская Т.Г. и др. // Экспериментально-клиническая фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций. Сборник трудов под редакцией акад. РАМН, проф., докт. биол. наук М.Б. Штарка, проф., докт. биол. наук С.А. Сергеевой. Приложение к журналу №8 «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины» за 2009 год. М.: Издательство РАМН, 2009. – С. 151-154.
2. Булгак А.А. Вовлечение дисфункции сосудистого эндотелия в патогенез необратимых реперфузионных повреждений миокарда / Булгак А.А., Мрочек А.Г., Гурин А.В. // Новости медико-биол. наук. – 2004. – N 3. – С. 40-45.
3. Марков, Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – Т. 45, №12. – С. 62-80.
4. Эшпштейн О.И. Фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций. / Эшпштейн О.И., Штарк М.Б., Дыгай А.М., и др. – М.: Издательство РАМН, 2008. – 336 с.
5. Katoh M. Angiotensin converting enzyme inhibitor prevents plasminogen activator inhibitor-1 expression in a rat model with cardiovascular remodeling induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis. / Katoh M, Egashira K, Mitsui T, et al. / J Mol Cell Cardiol, 2000. – № 32. – P. 73 – 83.



## **EVALUATION OF CORRECTION OF MORPHOLOGICAL CHANGES AT ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MODELING ULTRA-LOW DOSES OF ANTIBODIES TO ENOS AT THE 28-DAY MODEL INDUCED BY L-NAME NITRIC OXIDE DEFICIENCY**

**A.S. BELOUS**

*Kursk State Medical University*

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

Modeling of L-NAME - induced deficiency of nitric oxide (intraperitoneal introduction of L-NAME at a dose of 12.5 mg / kg for 28 days) in rats led to the development of myocardial hypertrophy and the muscle layer of the vascular wall, renal ischemia with typical changes for this state. In the conditions of this model the protective effect of Impaza expressed in the prevention of increase in transverse diameter of miocardiocytes and a more favorable picture of the morphological changes in the kidneys had been observed.

Keywords: Impaza, endothelium, nitric oxide, L-NAME.