

заболевания в лимфоцитах выявляется функциональная недостаточность, проявляющаяся уменьшением интенсивности метаболических процессов и снижением антиоксидантной защиты клеток, однако в стадии атаки и ремиссии нарушения метаболизма в основном затрагивают углеводный обмен, а при рецидиве — углеводный и жировой обмены. Следовательно, изменения, возникающие у больных ОНЛЛ при рецидиве, свидетельствуют об истощении метаболических резервов клеток иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия. — М.: Медицина, 1998. — 704 с.
2. Волкова М. А. Клиническая онкогематология. — М.: Медицина, 2001. — 576 с.
3. Воробьев А. И. Руководство по гематологии в 3 томах. — Т. 1. — М.: Ньюдиамед, 2002. — 280 с.
4. Жук Е. А., Галенок В. А. // Тер. Архив. — 1999. — № 4. — С. 55—57.
5. Земсков А. М., Земсков В. М. // Клин. лаб. диагностика. — 1994. — № 3. — С. 34—35.

6. Ковалева Л. Г. Острые лейкозы. — М.: Медицина, 1990. — 212 с.
7. Савченко А. А., Сунцова Л. Н. // Лаб. дело. — 1989. — № 11. — С. 23—25.
8. Савченко А. А., Смирнова С. В. // Вес. нов. мед. тех. — 2001. — № 2. — С. 64—67.
9. Bisset L. R., Lung T. L., Kaelin M. // Eur. J. Haematol. — 2004. — Vol. 72. — P. 203—212.
10. Faray S. S., Fehniger T. A., Ruggeri L., et al. // Blood. — 2002. — Vol. 100. — P. 1935—1947.
11. Lanier L. L. // Cur. Opin. Immun. — 2003. — Vol. 15. — P. 308—314.
12. Lian R. H., Kumar V. // Immunology. — 2002. — Vol. 14. — P. 453—460.
13. Nakamura H., Idiris A., Kato Y., Kato H. // Oncol. Rep. — 2004. — № 11. — P. 673—676.

Контактная информация:

Смирнова Ольга Валентиновна — к. м. н., с. н.с. лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, e-mail: ovsmimova71@mail.ru

УДК 616.12-008.331.1+ 616-005.4]-092

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП НА МОДЕЛИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

М. В. Покровский, В. И. Кочкаров, Т. Г. Покровская, Е. Б. Артюшкова, Е. Н. Пашин, Л. М. Даниленко, М. В. Корокин, А. С. Белоус, В. А. Малыхин

Курский государственный медицинский университет

Моделирование дефицита оксида азота осуществляли внутрибрюшинным введением N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) белым крысам. Это приводит к развитию значительной артериальной гипертензии, гипертрофии кардиомиоцитов. Антигипертензивный и эндотелиопротективный эффекты отмечаются в наибольшей степени выраженности в группе донаторов NO.

Ключевые слова: оксида азота, L-NAME, эндотелиальная дисфункция.

STUDY OF ENDOTHELIOPROTECTIVE EFFECTS OF DIFFERENT DRUG GROUPS ON MODELS OF L-NAME-INDUCED DEFICIENCY OF NITROGEN OXIDE

M. V. Pokrovskiy, V. I. Kochkarov, T. G. Pokrovskaya, E. B. Artiushkova, E. N. Pashin, L. M. Danilenko, M. V. Korokin, A. S. Belous, V. A. Malyhin

The modelling of deficiency of oxide nitrogen introduction L-NAME to rats led to development of arterial hypertension, increase in the factor of endothelial dysfunction, decrease in the maintenance of nitrates/nitrites levels, hypertrophy of cardiomyocytes. Introduction of donors NO, activators of No-sintase, antioxidants, antihypertensive drugs has revealed comparable endothelioprotective effects.

Key words: oxide nitrogen, L-NAME, endothelial dysfunction.

Поиск возможностей целенаправленного лечения эндотелиальной дисфункции (ЭД), возникающей вследствие снижения образования и биодоступности оксида азота, является важной клинико-экспериментальной задачей.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка эндотелиопротективных эффектов лекарственных средств различных механизмов действия на модели L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота (NO).

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование дефицита оксида азота осуществляли внутрибрюшинным введением N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг белым крысам самцам линии Wistar массой 250—300 г ($n = 10$) в течение 7 дней [5]. На этом фоне каждый день вводились изучаемые эндотелиопротективы, оценку степени коррекции эндотелиальной дисфункции изучаемыми препаратами проводили на 8-й день эксперимента.

Фармакологическую коррекцию дефицита оксида азота осуществляли лекарственными средствами следующих групп: эндогенными и синтетическими донаторами NO — L-аргинином (200 мг/кг, однократно внутрибрюшинно), изосорбида мононитратом (4 мг/кг, однократно внутривенно), небивололом (0,5 мг/кг, однократно внутривенно); активаторами NO-синтазы — резвератролом (2 мг/кг, однократно внутрибрюшинно), сверхмалыми дозами афинно очищенных антител к эндотелиальной NO-синтазе (препарат «Импаса», из расчета 1 таблетка на 100 мл воды со свободным доступом к питью, с учетом объема суточной выпитой жидкости, в среднем (20 ± 3) мл на одно животное, милдронатом (80 мг/кг, однократно внутривенно); антиоксидантами — мексикором (30 мг/кг, однократно внутримышечно), мексидолом (30 мг/кг, однократно внутримышечно), аскорбиновой кислотой (30 мг/кг, однократно внутривенно); а также кардиотропными препаратами, обладающими доказанными плейотропными эндотелиопротективными эффектами — эналаприлом (0,5 мг/кг, однократно внутривенно), лозартаном (6 мг/кг, однократно внутривенно), амлодипином (0,5 мг/кг, однократно внутривенно), индапамидом (2 мг/кг, однократно внутривенно). Препараты вводили за 1 час до введения блокатора NO-синтазы — L-NAME.

Животных наркотизировали этиминалом натрия в дозе 50 мг/кг и катетеризировали сонную артерию. Регистрацию систолического и диастолического артериального давления, частоту сердечных сокращений измеряли непрерывно посредством датчика P2131D («Gould», США) и компьютерной программы «Bioshell». Оценку состояния реактивности сосудистой стенки осуществляли после проведения функциональных сосудистых проб с введением ацетилхолина (40 мкг/кг) и нитропрусида (30 мкг/кг), используя показатель — коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) [5].

В качестве биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции определяли стабильные метаболиты NO [3], а уровень экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота (e-NOS) находили в клеточном лизате по модифицированному методу Hendrickson R. J. [4].

Для морфологического подтверждения развития моделируемых патологических процессов и в комплексной оценке эффективности препаратов проведе-

но гистологическое исследование сердца во всех сериях эксперимента по методике Автандилова Г. Г. [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Блокада эндотелиальной NO-синтазы, вызываемая введением L-NAME, приводила к развитию выраженной артериальной гипертензии, что выражалось в увеличении абсолютных цифр систолического/диастолического артериального давления (АД) до $(190,3 \pm 6,7) / (145,0 \pm 3,9)$ мм рт. ст. ($p < 0,05$), тогда как данные показатели у интактных животных составили $137,7 \pm 3,7 / 101,9 \pm 4,3$ мм рт. ст. Коэффициент эндотелиальной дисфункции рассчитывался по формуле: $KЭД = САД НП / САД АХ$, где САД НП — площадь треугольника над кривой восстановления АД, причем 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, причем за меньший из катетов принимают разность между точкой окончания брадикардического кардиального компонента и точкой восстановления АД (рис. 1, 2). Мы рассчитывали КЭД у каждого животного интактной и контрольной групп и получили разницу КЭД в 5 раз, соответственно 1,1 у интактных и 5,4 у животных, получавших L-NAME.

Моделирование L-NAME-индуцированного дефицита азота характеризовалось также резким снижением показателей биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции. Так, уровень экспрессии eNOS у интактных животных составил $(72,9 \pm 2,2)$ % от контроля, а у животных с моделированием патологии — $(21,4 \pm 3,4)$ % ($p < 0,05$) от контроля. Аналогичная тенденция наблюдалась при количественном определении стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке животных. Данный показатель у интактных животных составил $(114,1 \pm 4,2)$ мкмоль, тогда как у животных с патологией — $(61,2 \pm 2,7)$ мкмоль ($p < 0,05$). Характерные изменения наблюдались и при морфологическом исследовании сердца. Отмечена гипертрофия кардиомиоцитов левого желудочка до $(18,4 \pm 0,9)$ ($p < 0,05$) мкм (в норме $[9,1 \pm 0,1]$ мкм), сосудистые изменения в виде спастического состояния артериол, утолщения их стенок.

Полученные результаты позволяют констатировать, что моделирование L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота в течение семи дней приводит к развитию значительной артериальной гипертензии, гипертрофии кардиомиоцитов, увеличению коэффициента эндотелиальной дисфункции, уменьшению выработки оксида азота, снижению экспрессии eNOS. Наиболее легко воспроизводимым способом оценки ЭД на данной модели, на наш взгляд, является предложенный нами расчетный показатель — коэффициент эндотелиальной дисфункции.

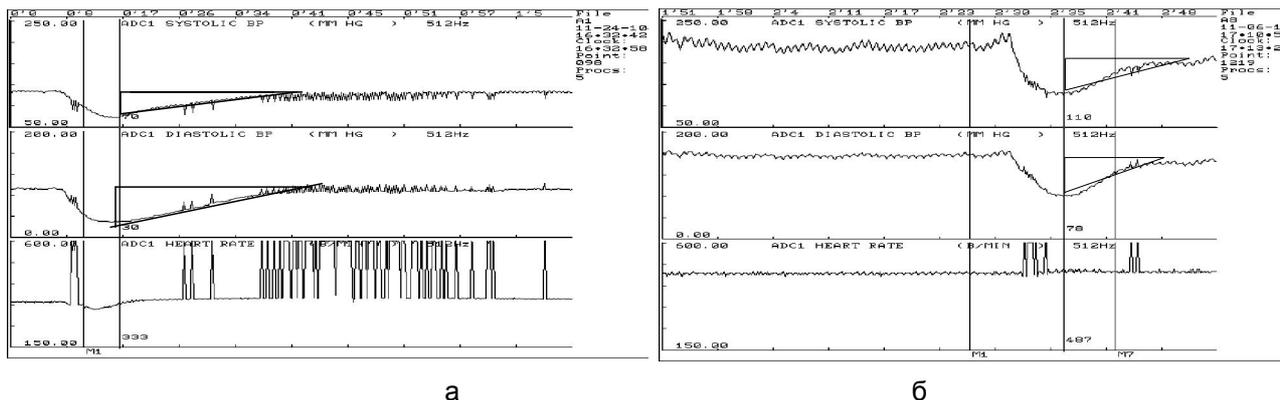


Рис. 1. Кривые САД, ДАД, ЧСС при проведении функциональной пробы на эндотелийзависимую вазодилатацию (внутривенное введение ацетилхолина 40 мкг/кг) у intactных животных (а) и у животных при моделировании эндотелиальной дисфункции введением N-нитро-L-аргининметилового эфира (б)

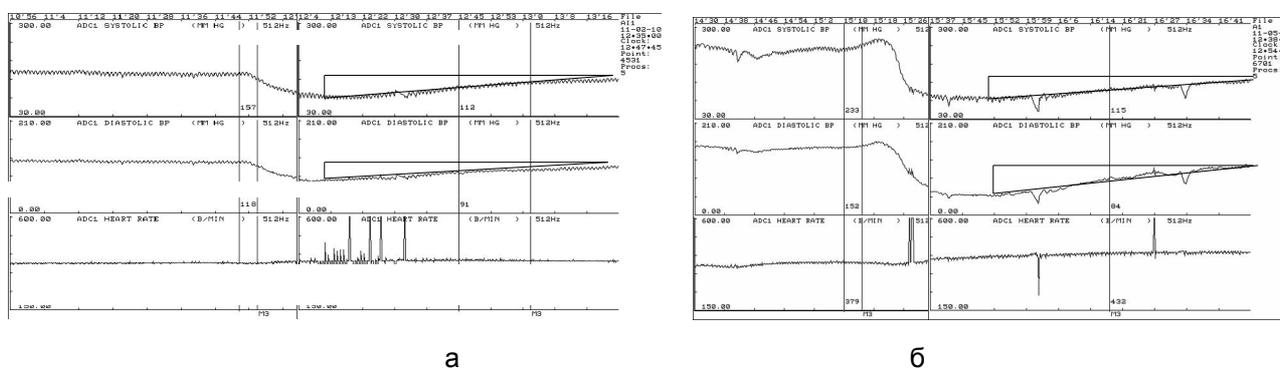


Рис. 2. Кривые САД, ДАД, ЧСС при проведении функциональной пробы на эндотелийнезависимую вазодилатацию (внутривенное введение нитропрусида 30 мкг/кг) у intactных животных (а) и у животных при моделировании эндотелиальной дисфункции введением N-нитро-L-аргининметилового эфира (б)

Данный показатель может рассматриваться как способ скрининговой оценки эндотелиопротективных эффектов новых биологически активных соединений. Поэтому в дальнейших наших исследованиях мы использовали только именно этот показатель.

Результаты проведенных экспериментальных исследований, представленные в табл., подтвердили наличие эндотелиопротективных свойств у всех изучаемых препаратов. Все они достоверно снижали коэффициент эндотелиальной дисфункции, что свидетельствует о восстановлении баланса эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации.

При сравнительном анализе антигипертензивного и эндотелиопротективного эффектов у изучаемых групп препаратов отмечается, что их сочетание в наибольшей степени выраженности присутствует в группе донаторов NO. В группе активаторов NO-синтазы преобладает проявление наилучшего эндотелиопротективного эффекта, что можно объяснить большей патогенетически направленной коррекцией дефицита оксида азота при моделировании данной патологии. Результаты изучения сверхмалых доз к eNOS не обнаружили антигипертензивных эффек-

тов, но выявили эндотелиопротективное воздействие, занимающее по степени выраженности промежуточное положение между активаторами NO-синтазы и донорами NO и превышающее таковое у представителей базовых антигипертензивных препаратов. Группа антиоксидантов проявляет несколько меньшее эндотелиопротективное действие при умеренном антигипертензивном эффекте, что, по-видимому, связано с увеличением лишь биодоступности синтезируемого оксида азота, но не его количества.

Следует отметить отсутствие антигипертензивного эффекта при проявлении умеренного эндотелиотропно направленного воздействия у группы базовых антигипертензивных препаратов, возможно, это связано с использованием малых доз, соответствующих стартовой терапии, принятой в фармакологии артериальной гипертензии в клинических условиях. Выделить из данной группы по проявлению наибольшего эндотелиотропного воздействия можно препараты из группы блокаторов AT I рецепторов — лозартан и группы антагонистов кальция — амлодипин [2].

Таблица

Показатели артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции при фармакологической коррекции L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота различными группами эндотелиопротективных препаратов ($M \pm m, n = 10$) и препараты

Группы животных	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	КЭД
Интактные	137,7 ± 3,7	101,9 ± 4,3	1,1 ± 0,1
L-NAME (25 мг/кг) 7 дней	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*	5,4 ± 0,6*
Донаторы NO			
L-NAME + L-аргинин (200 мг/кг)	177,6 ± 9,6**	140,1 ± 6,4	2,5 ± 0,2**
L-NAME + изосорбида мононитрата (4 мг/кг)	151,1 ± 11,2**	119,6 ± 6,3**	1,7 ± 0,1**
L-NAME + небиволол (0,5 мг/кг)	149,8 ± 13,3**	112,4 ± 8,6**	2,0 ± 0,3**
Активаторы NO-синтазы			
L-NAME + резвератрол (2 мг/кг)	183,8 ± 15,0	140,0 ± 8,3	1,2 ± 0,1**
L-NAME + милдронат (80 мг/кг)	161,3 ± 8,7**	122,4 ± 5,9**	1,7 ± 0,2**
L-NAME + сверхмалые дозы антител к NO-синтазе	184,3 ± 7,0	136,7 ± 6,5	2,1 ± 0,2**
Антиоксиданты			
L-NAME + мексикор (30 мг/кг)	158,1 ± 9,3**	126,6 ± 5,2**	2,9 ± 0,1**
L-NAME + мексидол (30 мг/кг)	160,1 ± 3,4**	125,5 ± 4,7**	2,9 ± 0,5**
L-NAME + аскорбиновая кислота (30 мг/кг)	187,4 ± 6,1	137,7 ± 3,8	2,0 ± 0,1**
Базовые антигипертензивные препараты			
L-NAME + эналаприл (0,5 мг/кг)	183,9 ± 11,4	138,9 ± 7,0	3,3 ± 0,3**
L-NAME + лозартан (6 мг/кг)	192,2 ± 10,5	138,2 ± 2,4	2,5 ± 0,3**
L-NAME + амлодипин (0,5 мг/кг)	186,3 ± 15,2	131,1 ± 7,0	2,1 ± 0,3**
L-NAME + индапамид (2 мг/кг)	191,4 ± 10,0	140,4 ± 2,4	3,5 ± 0,4**

* $p < 0,05$ — в соотношении с интактными;

** $p < 0,05$ — в соотношении с контрольной группой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные выше доказательства сопоставимых по степени эндотелиопротективных эффектов лекарственных средств различных групп позволяют рекомендовать предложенный нами способ оценки эндотелиальной дисфункции на модели дефицита NO к применению в экспериментальной кардиофармакологии. Кроме того, полученные данные доказывают концепцию патогенетически обоснованного подхода при коррекции дефицита оксида азота. В этом случае учитывается фармакологическое действие на различные точки приложения на системном и органном уровне [2]. Результаты исследования позволяют сделать вывод об оправданном дополнительном назначении эндотелиотропных аддитивов к препаратам базисной фармакотерапии артериальной гипертензии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Основы патологоанатомической практики. — М.: РМАПО, 1994. — 512 с.
2. Зодионченко В. С., Адашева Т. В., Сандомирская А. П. // Рус. мед. журн. — 2002. — № 1. — С. 11—15.
3. Метельская В. А. // Клинич. и лаб. диагностика. — 2004. — № 9. — С. 86.
4. Метельская В. А., Гуманова Н. Г., Литинская О. А. и др. // Вопр. биол. медицины и фарм. химии. — 2004. — № 2. — С. 34—39.
5. Deng L. Y., Thibault G., Schiffrin E.L. // Clin. Exp. Hypertens. — 1993. — Vol. 15. — P. 527—537.

Контактная информация:

Покровский Михаил Владимирович — д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии Курского государственного медицинского университета, e-mail: mvpokrovskiy@pharmstd.ru