

частных хозяйств, так и птицефабрик, отобранные в весенний период, содержали значительно меньшее количество каротиноидов, чем собранные с Июля по Август

Таблица 2

Зависимость содержания каротиноидов от времени года (месяца)

Показатель	Яйца птицефабрик и фермерских хозяйств		Яйца частных хозяйств	
	Время года (месяц)			
	Апрель – Июнь (IV – VI)		Июнь – Август (VI – VIII)	
Содержание каротиноидов	8,8 ± 0,3	20,3 ± 0,4	44,8 ± 0,5	55,8 ± 0,7
Сумма содержания лютеина и зеаксантина, %	87,2	88,0	88,3	88,0
Отношение лютеин/ зеаксантин	2,29 : 1	2,41 : 1	3,18 : 1	3,23 : 1

Литература

1. Handelman, G.J., Nightingale, Z.D., Lichtenstein, A.H., Schaefer, E.J., Blumberg, J.B. // Am. J.Clin Nutr - 1999.- v.70.- P.247.
2. Lyle B.J., Mares-Perlman J.A, Klein R., et al. // Am. J.Clin. Nutr.- 1999.- v.70.- №4.- P.517.
3. Seddon J.M., Ajani UA., Sperduto R.D. et al // JAMA.- 1994.- v.272.- №18.- P.1413.
4. Mayne S.T. //FASEB J.- 1996.- №10.- P.690.
5. Р. Марри, Д.Гренне, П.Мейс, В.Родуэл. Биохимия человека.- 1993.- М.: Мир.- №2.- 380 с.
6. Куликов В.Ю., Семенюк А.В., Колесникова Л.И. Перекисное окисление липидов и холодовой фактор.- Новосибирск., Наука.- 1988.- 198 с.
7. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. В журнале: Вестник АМН СССР.- 1984.- 4.- С.45-51.
8. Величковский Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды. Вестник РАМН, 2001, № 6, с. 45-52.
9. Воскресенский О.Н., Жутаев И.А., Бобырев В.Н. Антиоксидантная система, онтогенез и старение (обзор). // Вопросы медицинской химии.- 1982.- №1.- С.14-18.
10. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Роль оксида азота в сердечно-сосудистой патологии. Взгляд патофизиолога.- Росс. кардиол. ж-л.- 2000.- №5.
11. Поскрипко Ю.А. Коррекция нарушений окислительного метаболизма синтетическими аналогами токоферола // Фарм. ж-л.- 1998.- №1, С.104-106.
12. Schaeffer J.L., Tyczkowski J.K., Parkhurst C.R., Hamilton P.B. // Poultry Sci.- 1988.- v.67.- №4.- P.608.
13. Statham M. //British Poutry Sci.- 1984.- v.25.- P.153.
14. Burdick D., Fletcher D.L.. // Poultry Sci.- 1984.- v.63.- №10.- P.1946.
15. Bailey C.A., Chen B.H. //J. Food Sci. 1989. v.54.- №3.- P. 584.
16. Hard D.J., Scott K.J. // Food Chem. - 1995.- v.54.- P.101.

ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ L-АРГИНИНА ПРИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОМ СПОСОБЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

***Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, Л.М. Даниленко, Г.С. Лазаренко,
Я.И. Залозных, М.В. Покровский***

Курский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии

В настоящее время среди всех контуров регуляции сосудистого тонуса объектом пристального внимания многих исследователей является эндотелий. Регуляция сосудистого тонуса эндотелиоцитами осуществляется посредством образования и освобождения целого ряда веществ, обладающих сосудорасширяющим и сосудосуживающим действием. Главным проявлением вазодилатирующей функции эндотелия является выработка оксида азота (NO). Оксид азота образуется из аминокислоты L-аргинина под действием NO- синтазы (NOS), в физиологии сердечно-сосудистой системы большая роль принадлежит эндотелиальной NOS. Патогенез сердечно-сосудистых заболеваний

связан с нарушением дисбаланса эндотелиальных субстанций – усилением роли одних и ослаблением функционирования других. Основное значение в механизме развития эндотелиальной дисфункции имеют окислительный стресс, продукция мощных вазоконстрикторов (эндопероксида, эндотелины, АП), а также цитокинов и фактора некроза опухоли, которые подавляют, продукцию азота. Однако тонкие механизмы этих процессов до конца не ясны. Это могут быть повреждения клеточных мембран, нарушение внутриклеточных механизмов регуляции, нейроэндокринные изменения, дефицит L-аргинина.

L-аргинин является единственным источником или субстратом для образования оксида азота под воздействием NOS. При повреждении эндотелия атеросклерозом, сахарным диабетом суммарная активность выработки оксида азота снижена. Как известно, любая ферментативная система зависит по принципу прямой связи и активируется наличием субстрата. Отсюда возникает гипотеза, что наиболее эффективной стимуляцией выработки оксида азота может быть дача больших доз субстрата, который, с одной стороны активирует ферментативную систему цикла обмена NO, а с другой стороны является источником NO.

Литературные данные об эндотелиопротективных эффектах L-аргинина в основном получены в клинических исследованиях с использованием в виде корректора эндотелиальной дисфункции у курильщиков, основываясь на манжеточной пробе (11, 13). Имеются данные первого пилотного испытания перорального введения L-аргинина в качестве дополнительного препарата у пациентов с сердечной недостаточностью (14). При моделировании острого и хронического эмоционального стресса нормализация порогов возникновения фибрилляции желудочка сердца крыс L-аргинином и представленное его положительное инотропное действие свидетельствует о существовании NO-зависимых механизмов защиты сердца (5). Имеются единичные экспериментальные доказательства гипотензивной активности L-аргинина (9). В то же время, в доступной литературе мы не нашли данных об эндотелиопротективных эффектах L-аргинина при мощной, тотальной блокаде NOS. С другой стороны, открытым остаётся вопрос и о кардиопротективных эффектах L-аргинина в этих условиях.

Учитывая вышеизложенное, целью нашего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективного действия L-аргинина в условиях экспериментального дефицита оксида азота.

Материалы и методы исследования

Опыты проводились на белых крысах самцах линии Wistar массой 250-300 г. N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг/сут (12). На 7 день от начала эксперимента под наркозом (этаминал-натрия 50 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей, болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в правую бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли непрерывно посредством датчика и компьютерной программы “Bioshell”. Функциональные пробы: внутривенное введение ацетилхолина (40мкг/кг) (15) и нитропрусида натрия (30 мкг/кг) (1).

Исследование сократимости миокарда проводили после перевода животного на управляемое дыхание. Полость левого желудочка зондировали иглой через верхушку сердца и регистрировали: левожелудочковое давление (ЛЖД), максимальную скорость сокращения (+dp/dt), максимальную скорость расслабления (-dp/dt), ЧСС. Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных проводили наружные пробы: нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей дуги аорты на 30 секунд) (3, 4, 8), 3-х минутная гипоксия воспроизводилась посредством выключения аппарата искусственной вентиляции лёгких (6, 7). При статистической обработке данных рассчитывали среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Для более наглядного изображения соотношения функционального состояния реактивности сосудистого русла и показателей сократимости миокарда на фоне патологии и под действием фармакологически активных веществ был использован метод визуализации в трёхмерном пространстве(10). Задаваемые параметры по трём осям координат: КЭД, параметры проб нагрузки сопротивлением и реоксигенации.

Результаты исследований

Эндотелиопротективные эффекты. Для оценки эффективности эндотелийзависимых реакций (ЭЗР) нами исследована функциональная проба с введением дозы 40 мкг/кг ацетилхолина (АХ). Болюсное внутривенное введение ацетилхолина в течение 3-5 сек приводило к резкому падению артериального давления достигающего пика у интактных животных для систолического давления (САД) $75,0 \pm 4,4$ мм рт.ст. , для диастолического давления (ДАД) – $39,7 \pm 2,9$ мм рт. ст. и для среднего артериального давления (СрАД) $59,9 \pm 2,9$ мм рт. ст., при этом в течение первых 2-3 сек развивалась резкая брадикардия до 130-150 ударов в минуту. Восстановление АД происходило в среднем за $42,2 \pm 0,8$ сек. после нормализации сердечного ритма. Именно этот интеграл нами принимался как сосудистый компонент реакции на АХ и использовался для дальнейших расчётов.

Эндотелийнезависимая реакция (ЭНЗР) оценивались посредством фармакологической пробы с введением нитропрусида (НП) в дозе 30 мкг/кг и также характеризовалась снижением САД до $81,8 \pm 8,1$, ДАД до $57,4 \pm 6,9$ и СрАД до $61,0 \pm 3,0$ мм рт.ст. с последующим полным восстановлением в среднем в течение $45,1 \pm 1,0$ сек. При этом интеграл (площадь под кривой восстановления) использовалась нами в дальнейших расчётах и определялась исходным уровнем артериального давления (чем выше уровень исходного артериального давления, тем больше абсолютная величина его падения, а следовательно и интеграл) и временем его восстановления.

Блокада NO-синтазы с помощью длительного, ежедневного, в течение 7-суток внутрибрюшинного введения L-NAME (N-нитро-L-аргинин метиловый эфир в дозе 25 мг/кг) приводила к достоверному снижению интеграла (реакция восстановления АД после введения АХ) $695,3 \pm 87,6$ усл.ед. по сравнению и интактной группой животных, у которых этот показатель составлял $1268,0 \pm 74,8$ усл.ед. Напротив, ЭНЗР, являющаяся отражением реакции на введение НП увеличилась примерно в 2 раза у животных с блокадой NO-синтазы и её интеграл составил соответственно $3322,7 \pm 116,7$ усл.ед. и $1375,3 \pm 93,7$ усл.ед. в группе контроля. Принципиальная разница в ЭЗ и ЭНЗ реактивности интактных животных и животных с блокадой NO-синтазы (L-NAME зависимой) закономерно привело нас к необходимости выведения специального коэффициента, характеризующего степень эндотелиальной дисфункции - далее «коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД)» (Покровский М.В.,2005), являющегося отношением интеграла ЭНЗР восстановления АД в ответ на введение НП к интегралу ЭЗР восстановления АД в ответ на введение АХ (таблица 1).

Таблица 1

Расчет коэффициента эндотелиальной дисфункции.

Группы животных	Функциональные пробы	Δ СрАД сосудистой реакции(мм рт ст)	Время сосудистой реакции (сек)	Интеграл сосудистой реакции (усл ед)	Коэффициент эндотелиальной дисфункции
Интактные	АХ	$59,9 \pm 2,9$	$42,2 \pm 0,8$	$1268,0 \pm 74,8$	$1,1 \pm 0,1$
	НП	$61,0 \pm 3,0$	$45,1 \pm 1,0$	$1375,3 \pm 93,7$	
Получав-шие L-NAME	АХ	$68,0 \pm 4,1$	$20,0 \pm 1,4$	$695,3 \pm 87,6$	$5,4 \pm 0,6^*$
	НП	$98,0 \pm 2,0$	$67,4 \pm 1,4$	$3322,7 \pm 116,7$	

*- $p < 0,05$ – в сравнении с интактной группой

Мы рассчитывали КЭД у каждого животного интактной группы и крыс после моделирования блокады NO-синтазы и получили разницу КЭД в 5 раз – соответственно 1,1 у интактных и 5,4 у животных, получавших L-NAME.

Сравнение показателей абсолютного снижения САД, ДАД, СрАД, времени падения, восстановления, их скоростные характеристики, а также динамика ЧСС при проведении фармакологических проб с АХ и НП не выявили достоверных информационных различий в абсолютных значениях показателей АД между собой, несмотря на выраженное достоверное развитие артериальной гипертензии при дефиците оксида азота, что затрудняет объективную оценку вклада именно нарушения продукции оксида азота при данной экспериментальной модели эндотелиальной дисфункции (таблица 2).

Таблица 2

Динамика показателей АД и ЧСС при моделировании дефицита оксида азота и его фармакологической коррекции с использованием L-аргинина

Группы животных	Фармакологическая проба	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст.	ЧСС, уд в мин
Интактные	Исходные	137,7 ± 3,7	101,9 ± 4,3	420,0 ± 9,0
	АХ	84,3 ± 4,5	38,7 ± 2,8	416,0 ± 14,0
	НП	83,0 ± 3,7	42,1 ± 4,4	415,0 ± 10,0
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*	428,0 ± 11
	АХ	110,6 ± 5,2*	82,8 ± 6,6*	426,0 ± 14,0
	НП	88,7 ± 4,7	50,8 ± 4,2	426,0 ± 13,0
Острая проба с L-аргинином (200 мг/кг)	Исходные	133,0 ± 6,4	102,5 ± 4,2	396,0 ± 7,0
	АХ	89,2 ± 4,4	51,1 ± 4,9	374,0 ± 11,0*
	НП	90,2 ± 3,5	41,4 ± 3,9	415,0 ± 10,0
L-NAME (25 мг/кг)+L-аргинин (200 мг/кг)	Исходные	173,3 ± 8,3	137,3 ± 9,4	356,0 ± 12,0**
	АХ	81,0 ± 2,9**	36,0 ± 4,9**	303,0 ± 17,0**
	НП	72,3 ± 5,5**	26,7 ± 3,2**	301,0 ± 15,0**
L-NAME(25 мг/кг)+Эналаприл (0,5 мг/кг)	Исходные	183,9 ± 11,4	138,9 ± 7,0	377,0 ± 9,0**
	АХ	98,0 ± 3,3	61,6 ± 4,7	381,0 ± 11,0**
	НП	88,7 ± 4,0	42,7 ± 3,3	381,0 ± 11,0**
L-NAME+Эналаприл (0,5 мг/кг) +L-аргинин (200 мг/кг)	Исходные	142,7 ± 14,6	116,0 ± 12,2	372,0 ± 17,0**
	АХ	85,0 ± 7,5**	53,0 ± 5,7**	357,0 ± 16,0**
	НП	84,8 ± 7,8	46,7 ± 3,0	376,0 ± 14,0**

* - $p < 0,05$ – в сравнении с интактной группой, ** - $p < 0,05$ – в сравнении с группой L-NAME дефицита азота.

Таким образом, для дальнейшей оценки влияния фармакологических агентов на ЭЗР сосудистого русла, в качестве основного, нами использован КЭД, как показатель фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

Острая проба с L-аргинином в дозе 200 мг/кг внутрибрюшинно не выявила достоверных различий КЭД с интактными животными.

Курсовое введение L-аргинина в дозе 200 мг/кг в сутки практически полностью предотвращало развитие эндотелиальной дисфункции и КЭД составил 1,2 (таблица 3).

Показатели эндотелиальной дисфункции в группах животных получавших L-аргинин в острой пробе, на фоне L-NAME – индуцированного дефицита NO и в сочетании с эналаприлом и L-аргинином

Группы животных	Функциональные пробы	Δ СРАД сосудистой реакции(мм рт.ст.)	Время сосудистой реакции (сек.)	Интеграл сосудистой реакции (усл. ед)	Коэффициент эндотелиальной дисфункции
Острая проба L-аргинин	АХ	49,0±2,9	27,3±2,1	623,1±58,3	1,5±0,1
	НП	56,0±3,0	43,9±4,8	1224,0±49,5	
L-NAME + L-аргинин	АХ	53,0±5,6	31,8±7,1	1198,6±73,3	1,5±0,05
	НП	64,0±5,0	59,0±4,6	1863,7±51,3	
L-NAME +эналаприл	АХ	80,1±5,5	35,0±1,7	14055±97,5	3,2±0,1
	НП	109,0±8,0	98,7±5,6	5123,9±121,8	
L-NAME +эналаприл+L-аргинин	АХ	61,2±7,8	39,5±7,1	1088,6±61,2	3,0±0,1*
	НП	79,0±6,0	71,5±7,6	2763,9±143,3	

* - $p < 0,05$ - в сравнении с группой L-NAME + эналаприл,

В качестве рабочей гипотезы, которая могла бы объяснить столь выраженное эндотелиопротективное действие L-аргинина позволим себе спекулятивно предположить, что аргинин в этих дозах может выступать в качестве субстрата, имеющего большее сродство к NO-синтазе, чем его структурный аналог – L-NAME, во всяком случае той NO-синтазы, которая находится в сосудистом эндотелии.

Объектом нашего дальнейшего исследования явилось эндотелиопротективное действие длительного, ежедневного в течение 7 дней ведения эналаприла на фоне L-NAME- индуцированной блокады NO-синтазы. Как видно из таблицы 2 эналаприл в дозе 0,5 мг/кг 1 раз в сутки внутрижелудочно достоверно незначительно снижал САД, ДАД и соответственно до $183,9 \pm 11,4$ и $138,9 \pm 7,0$ мм рт. ст. в сравнении с крысами, получавших блокатор NO-синтазы L-NAME. При этом в изучаемой дозе САД, ДАД существенно не достигали соответствующих величин у интактных животных, которые составляли $137,7 \pm 3,7$ и $101,9 \pm 4,3$. При этом КЭД по СРАД составил $3,2 \pm 0,1$. В связи с этим выяснилось, что в экспериментах L-NAME + эналаприл 0,5 мг/кг + L-аргинин 200 мг/кг, донатор оксида азота L-аргинин достоверно потенцировал гипотензивное действие эналаприла, а также КЭД, который составил 3,0, тогда как L-NAME+ эналаприл КЭД составил 3.2.

Таким образом, полученные результаты, касающиеся исследования эндотелиопротективных свойств L-аргинина позволяют констатировать в методическом аспекте информативность КЭД, характеризующую выраженную эндотелиопротективного действия L-аргинина, превосходящую и потенцирующую таковую у эналаприла малеата.

Кардиопротективные эффекты. Исходя из трёх стратегически значимых гипотез о развитии эндотелиальной дисфункции под влиянием гипо- и реперфузионных повреждений, активации ПОЛ, активации РААС, а также несомненно влияния эндотелиоповреждающего действия гиперлипидемии, сахарного диабета и эстрогенной недостаточности на функциональное состояние миокарда, нами исследовано кардиопротективное действие L-аргинина на фоне L-NAME индуцированной блокады NO-синтазы. В ранних работах, вышедших из нашей лаборатории показано, что одной из наиболее информативных функциональных проб, позволяющих вскрыть симптомы компенсированной сердечной недостаточности и метаболически реактивной сердечной недостаточности по типу кальциевой перегрузки миокардиоцитов в сочетании с дефектом диастолы являются феномен Анрепа (пережатие аорты) и гипоксическая проба (2).

При проведении пробы с пережатием аорты и оценки падения амплитуды левожелудоч-

кового давления (ЛЖД) при его прямой катетеризации у интактных животных выявлено недостоверное падение ЛЖД на 25 сек пережатия по сравнению с 5 сек (таблица 4).

Таблица 4

Динамика показателей сократимости на проведение нагрузочных проб
($M \pm m$; в приростах абсолютных значений, $n=10$)

Нагрузочная проба	Группа	ЛЖД мм рт.ст.	+dp/dt мм рт.ст./с	-dp/dt мм рт.ст./с	ЧСС уд/мин
Исход	I	93,0±6,5	4279±247**	2787±260**	354±12**
	II	157,5±4,8*	7654±584*	5510±247*	375±6*
	III	107,8±7,0**	4895±266**	3247±198**	376±10
	IV	101,3±7,8**	7349±517*	3560±308* **	314±24**
	V	126,2±9,8* **	6444±221*	3810±247* **	374±5
	VI	118,6±5,7* **	6220±274*	3640±135*	360±15
ПА 5с	I	+149,7±11,8**	+4041±154**	+1101±93**	-89±7**
	II	+97,4±8,9*	+2553±249*	+534±39*	-25±4*
	III	+134,8±11,2**	+4790±336**	+1122±101**	-82±7**
	IV	+147,3±12,3**	+3559±126* **	+728±24	-53±6**
	V	+112,6±9,8	+3789±149**	+853±48	-62±4**
	VI	+122,6±7,7	+3956±125**	+936±63	-84±8**
ПА 25с	I	-17,7±3,2**	-959±90	-580±62	-48±4
	II	-33,0±3,0*	-3383±331*	-1409±105*	-77±2*
	III	-15,8±2,8**	-1006±34**	-562±90**	-58±3**
	IV	-19,2±2,5**	-1704±63**	-838±29**	-84±6
	V	-20,1±5,5**	-989±88**	-591±36**	-83±7
	VI	-18,4±3,7**	-1050±79*	-621±28**	-91±5**
Реоксигенация	I	+104,8±7,4	+4610±247	+1262±135	-123±9
	II	+54,7±4,9*	-1255±388*	-2383±195*	-143±3*
	III	+105,9±5,6**	+2728±272**	+2129±183**	-146±5**
	IV	+112,0±11,1**	+2057±126**	+1395±101**	-117±8**
	V	+113,6±10,4**	+3376±201**	+1916±121**	-134±4**
	VI	+120,7±6,2**	+3517±175**	+2131±152**	-151±7**

Примечание 1) I - значения интактной серии, II - при L-NAME-дефиците NO, III-острая проба с L-аргинином, IV- L-NAME+ L-аргинин, V-- L-NAME+ эналаприл, VI- L-NAME+ эналаприл+L-аргинин 2) Исходные ЛЖД, +dp/dt, -dp/dt, ЧСС представлены в абсолютных значениях; 3) При 25-й секунде (ПА25) представлены изменения в абсолютных значений относительно 5-й секунды нагрузки сопротивлением 4)* - при $p < 0,05$ в сравнении с интактной группой, 5) ** - при $p < 0,05$ в сравнении с группой - L-NAME-дефицита NO

Напротив, блокада NO-синтазы с помощью длительного ежедневного в течение 7-суток внутрибрюшинного введения L-NAME в дозе 25 мг/кг приводило к снижению ЛЖД на 25 сек пережатия аорты на 33,0±3,0 мм рт.ст.. L-аргинин при острой фармакологической пробе достоверно не влиял на пробу с нагрузкой сопротивлением, в тоже время, при хроническом введении L-аргинин в дозе 200 мг/кг на фоне блокады NO-синтазы предотвращал развитие скрытой сердечной недостаточности, что выражалось в предотвращении падения ЛЖД, которое составляло 19,2±2,5 мм рт.ст.

Обращает на себя внимание, что также как и в эндотелиотропных эффектах эналаприл в дозе 0,5 мг/кг оказывал кардиопротективное действие, а L-аргинин потенцировал его эффекты.

Аналогичные кардиопротективные эффекты, но уже на уровне метаболического ацидоза и, следовательно, коррекции редокс-потенциала окислительно фосфорилированных процессов метаболизма миокарда обнаружены на примере результатов гипоксической пробы. Так, у интактных животных прирост сократимости, выражающийся в увеличении ЛЖД в ответ на 3-х минутную гипоксию по сравнению с исходным составил 104,8±7,4 мм рт.ст., максимальной скорости сокращения - +dp/dt на 4610±247.,

максимальной скорости расслабления $-dp/dt$ - на 1262 ± 135 .

Напротив, у животных с моделированием блокады NO-синтазы прирост ЛЖД составил лишь на $+54,7 \pm 4,9$ мм рт. ст. При этом наблюдались полиморфные нарушения ритма и экстрасистолы, в 3 случаях из 13 приведшие к фатальным нарушениям ритма или не выходом животных из гипоксической брадикардии и гипотензии. L-аргинин в дозе 200 мг/кг не только увеличивал амплитуду ЛЖД при реоксигенации, но и полностью предотвращал гибель животных в ответ на 3-х минутую гипоксическую пробу.

Эналаприла малеат в дозе 0,5 мг/кг также увеличивал амплитуду ЛЖД на $113,6 \pm 10,4$ мм рт.ст., $+dp/dt$ на 3376 ± 201 и $-dp/dt$ на 1916 ± 121 , и данные эффекты потенцировались L-аргинином. Последнее характеризуется некоторым увеличением всех показателей, но достоверно не отличаемых от эффекта эналаприла.

Рабочей гипотезой реализации кардиопротекторного действия L-аргинина на фоне блокады NO-синтазы с помощью длительного ежедневного в течение 7-суток внутрибрюшинного введения L-NAME в дозе 25 мг/кг является:

1. Плотность окончаний холинергических постганглионарных волокон блуждающего нерва, выделяющих ацетилхолин и, следовательно, запускающих механизм эндотелийзависимых (связанных с NO-синтазой) вазодилаторных реакций в миокарде гораздо выше, чем в периферических сосудах.

2. На фоне функциональной вазоконстрикции коронарных сосудов и прежде всего, субэндокардиальной их части, L-аргинин приводит к большему вкладу NO-зависимых вазодилаторных механизмов реактивной (метаболической) и функциональной (феномен Анрепа или пережатие аорты) гиперемии коронарных сосудов.

3. Миокардиальная микроциркуляция в отличие от периферической с одной стороны характеризуется максимальной экстракцией кислорода из артериальной крови, а с другой, существенно меньшей ёмкостью венозного русла, следовательно, вклад эндотелийзависимых механизмов на уровне миокардиоцитов с точки зрения коррекции метаболического ацидоза на порядок более значимо для миокарда, чем для периферического кровообращения.

Таким образом, полученные результаты кардиопротективного действия L-аргинина, как монопрепарата, так и в сочетании с эналаприлом позволили выявить выраженные потенцирующие кардиопротективные эффекты L-аргинина на фоне блокады NO-синтазы на пробе с пережатием аорты кардиопротективного эффекта эналаприла на этой же модели.

Интегральные характеристики эндотелио- и кардиопротективных свойств L-аргинина. Выявленные нами выраженные эндотелио- и кардиопротективные свойства L-аргинина на фоне блокады NO-синтазы с помощью длительного ежедневного в течение 7-суток внутрибрюшинного введения L-NAME в дозе 25 мг/кг позволили провести расчёт интегральной характеристики эндотелио- и кардиопротективного действия донатора оксида азота при формировании облаков в многомерном функциональном пространстве с определением их межклассовых различий (10).

Для формирования интегральной характеристики эндотелио- и кардиопротективного действия L-аргинина и его сочетания с эналаприлом на фоне блокады NOS посредством введения L-NAME, нами использован метод визуализации образа в трёхмерном пространстве. В основу идеологии формирования интегральной характеристики нами положена гипотеза о взаимозависимости развития эндотелиальной дисфункции, реактивности на метаболический ацидоз с истощением макроэргов и кальциевой перегрузки на фоне признаков скрытой сердечной недостаточности морфологическим субстратом которой могли бы быть гипертрофия миокардиоцитов (2) и истощения запасов гликогена в миокардиоцитах.

На рисунке 1 по оси ординат – процент падения ЛЖД при проведении пробы с пережатием аорты, по оси абсцисс – КЭД в условных единицах, по оси Z (в тональном режиме) – прирост ЛЖД в абсолютных значениях на пике реоксигенации.

Как видно, облако, описывающее функциональное состояние сердечно-сосудистой системы животных с блокадой NOS располагается в верхнем левом углу, напротив, облако, соответствующее интактным животным в правом нижнем. Обращает на себя внимание, что L-аргинин, как в острой пробе, так и при хроническом введении приближает значения облаков исследуемых серий экспериментов к интактным животным. Чтобы повысить объективность оценки вышеизложенных результатов, применяя способ визуализации данных, параллельно производился расчёт межклассовых расстояний – d , т.е. расстояний между центрами облаков соответствующих групп и радиуса облака – r , с использованием тех же значений, на основании которых производилось построение визуальной картины распределения групп в трёхмерной плоскости. При анализе межклассовых различий следует отметить, что с высокой степенью достоверности показатели групп животных, получающих L-аргинин с высокой степенью достоверности отличаются от группы с L-NAME и перекрываются между собой и с группой интактных животных. Обращает на себя внимание, что серия животных, получавших эналаприл на фоне L-NAME занимает промежуточное положение между интактными и L-NAME. Облако L-аргинин+эналаприл визуализируется более близкими параметрами смещения в сторону интактных.

Таким образом, способ визуализации в трёхмерном пространстве позволяет более наглядно продемонстрировать взаимообусловленные и потенцирующие эндотелио- и кардиопротективные эффекты L-аргинина.

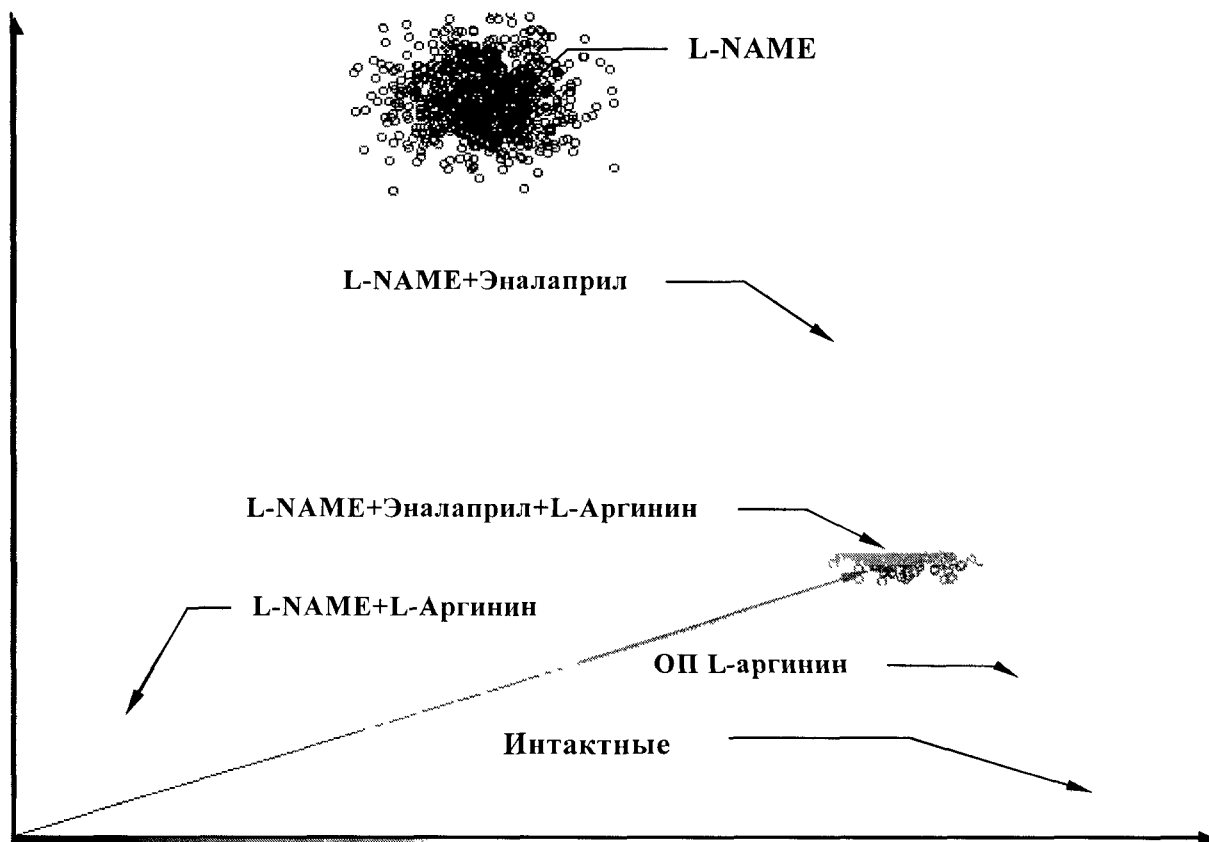


Рис. 1. Пространственное положение групп животных, с фармакологической коррекцией экспериментальной модели дефицита оксида азота, при проведении функциональных проб.

Ось x – процентное отношение величины ЛЖД на 25-й секунде пережатия аорты по сравнению с 5-й; Ось y – коэффициент эндотелиальной дисфункции; Ось z – прирост ЛЖД в абсолютных значениях после реоксигенации (градуирована оттенками серого, градация цветов представлена внизу рисунка).

Межклассовые расстояния между группами животных в зависимости от показателей функциональных проб групп животных, с фармакологической коррекцией экспериментальной модели дефицита оксида азота

№	Группа	I	II	III	IV	V	VI	r
I	Интактные	•						15,1
II	L-NAME гипертензия	71,3	•					10,6
III	Острая проба с L-аргинином	7,3*	68,1	•				10,0
IV	L-NAME + L-аргинином	14,5*	74,4	12,7*	•			15,9
V	L-NAME + Эналаприл	29,6*	67,1	22,4*	25,0*	•		18,0
VI	L-NAME + Эналаприл+L-аргинин	15,1*	61,8	8,2*	16,4*	17,0*	•	6,6

Примечание.1) r – радиус облаков соответствующих групп.

2) *- границы облаков взаимно перекрываются.

Выводы:

1. Коэффициент эндотелиальной дисфункции является наиболее информативным показателем, отражающим нарушение обмена оксида в условиях его экспериментального дефицита.

2. L-аргинин при хроническом введении предотвращает развитие эндотелиальной дисфункции при введении L-NAME.

3. L-аргинин потенцирует эндотелиопротективные эффекты эналаприла.

4. L-аргинин обладает кардиопротективными свойствами при экспериментальной модели дефицита азота, выражающейся в улучшении показателей сократимости в ответ на нагрузку сопротивлением при пережатии аорты и реоксигенацию.

5. L-аргинин потенцирует кардиопротекторные эффекты эналаприла при проведении нагрузочных проб.

Список литературы:

1. 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
2. Исследование кардиопротективного действия каптоприла в экспериментах с регистрацией трансмуральной компрессии в очаге ишемии /М.В.Покровский, Д.Е.Скопин, Е.Б.Артюшкова и др.// *Человек и лекарство: Тез.докл. IV Российск. национ. конгр. (8-12 апреля 1997) – М., 1997.- С.102.*
3. Меерсон, Ф.З. Метаболизм и функция кардиомиоцита. Руководство по кардиологии / Ф.З.Меерсон.- М., 1982. -С.112-141.
4. Меерсон, Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З.Меерсон.- М.: Медицина, 1984. -272с.
5. Монооксид азота в механизмах устойчивости сердечно-сосудистых функций при эмоциональном стрессе/С.И.Каштанов, М.А.Звягинцева, И.Л.Кошарская и др.//*Вестн. РАМН.* 2000.-№4.- С.21-25.
6. Пашин, Е.Н. Кардиопротективное действие эноксипина на модели гипоксия-реоксигенация / Е.Н.Пашин // *Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины и фармации: Матер. конф. - Курск, 1993 - С.171*
7. Пичугин, В.В. Биохимические и функциональные аспекты экспериментальной терапии расстройств кровоснабжения и биоэнергетики миокарда в острой стадии регионарной ишемии сердца: Автореф. дис. д-ра мед. наук./ В.В.Пичугин.- М., 1979. -25 с.
8. Применение дибунола для стимуляции репаративных процессов в сердечной мышце при инфаркте миокарда у крыс / В.В.Пичугин, Л.А. Конорев, В.Ю.Полумисков и др. // *Фармакология и токсикология.* - 1989. - Т.52, №6. -С. 52.
9. Северина И.С., Бусыгина О.Г., Пятакова Н.В. Активация растворимой гуанилатциклазы новыми донорами NO как основа направленного поиска новых эффективных вазодилататоров и антиагрегантов.// *Вестн. РАМН.* 2000.-№4.-С.25-30.
10. Скопин Д.Е. Диагностика уровня миокардиального резерва и функционального состояния при ишемических пореждениях сердца у животных: Автореф. дис.... Канд.техн. наук: (15.00.07)/ Д.Е.Скопин; Курск. Гос. Технич. ун-т, 1998.- 24 с.
11. Campisi R., Czernin J., Schoder H et. al. L-Arginin Normalizes coronary Vasomotion in Long-Term

Smokers Circulation 1999; 99: 491-97.

12. Deng, L.Y. Effect of hypertension induced by nitric oxide synthase inhibition on structure and function of resistance arteries in the rat / L.Y.Deng, G.Thibault, E.L.Schiffirin // Clin. Exp. Hypertens. -1993. -Vol.15. -P.527-537.

13. Heitzer T., Yla-Hertualla S., Luoma J. et al. Cigarette Smoking Potentiates Endothelial Dysfunction of Forearm Resistance Vessels in Patients With Hypercholesterolemia Role of Oxidized LDL. Circulation, 1996, 93: 1346-53.

14. Rector T.S., Bank A. J. Mullen K.A. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. Circulation 1996; 93:2135-41.

15. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension / J.B.Laursen, S.Rajagopalan, Z.Galis et al. // Circulation.- 1997.-Vol. 95.-P. 588-593

КАРДИО- И ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ СУБСТАНЦИИ БЕЗОПАСНОГО АНТИОКСИДАНТА π Q510 ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

*Л.М. Даниленко, Э.А. Парфенов, Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров,
Е.Г. Гуреева, М.П. Гладченко*

Курский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии

Терапия и профилактика заболеваний сердечно-сосудистой системы в развитых странах остается одной из самых актуальных проблем. Несмотря на большое количество лекарственных средств, применяемых кардиологами и большой объем работ проводимых по поиску новых более эффективных препаратов, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний занимает первое место (6).

Чрезмерная активация свободнорадикальных процессов влечет за собой каскад негативных реакций патологических процессов, лежащих в основе ряда заболеваний. Одними из наиболее изученных на сегодняшний день свободнорадикальных патологий являются атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, в развитии которых большое значение приобретает неконтролируемая генерация пероксидов (13,14).

Основной группой препаратов, способной противостоять оксидативному стрессу, являются антиоксидантные средства, инактивирующие свободные радикалы и препятствующие их образованию, участвующие в восстановлении свободных радикалов, или препараты обладающие опосредованной антиоксидантной активностью (1,4).

Поэтому объектом нашего исследования явилось новое металлокомплексное соединение, безопасный антиоксидант π Q510 в состав которого входит титан и аскорбиновая кислота, именуемое ниже по тексту как АТ, синтезированное д.х.н. Э.А. Парфеновым (5).

И целью нашего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективного действия АТ в условиях экспериментального дефицита оксида азота.

Материалы и методы исследования

Опыты проводились на белых крысах самцах линии Wistar массой 250-300 г. N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился внутривенно в дозе 25 мг/кг/сут. (3). На 7 день от начала эксперимента под наркозом (этамбул-натрия 50 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей, болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в правую бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли непрерывно посредством датчика и компьютерной программы "Bioshell". Функциональные пробы: внутривенное введение ацетилхолина (40мкг/кг) (12) и нитропруссид натрия (30 мкг/кг) (2).