

# ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ L-АРГИНИНА В КОРРЕКЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ

М. В. Покровский, Т. Г. Покровская, В. В. Гуреев, А. А. Барсук, Е. В. Проскуракова,  
М. В. Корокин, О. С. Гудырев, А. С. Белоус, В. И. Кочкаров, Л. М. Даниленко,  
О. В. Левашова, Н. В. Мальцева, О. С. Полянская<sup>1</sup>

У беременных крыс ADMA-подобную преэклампсию моделировали посредством ежедневного в течение 7 суток внутрибрюшинного введения L-NAME (25 мг/кг). Одновременное введение L-аргинина (200 мг/кг) в желудок предупреждало развитие артериальной гипертензии, улучшая плацентарную микроциркуляцию и снижая протеинурию.

**Ключевые слова:** L-NAME, L-аргинин, эндотелиальная дисфункция, плацентарная микроциркуляция, артериальная гипертензия

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что в патогенезе преэклампсии обнаружено множество факторов, в последние годы наибольшее внимание уделяется эндотелиальной дисфункции [18, 19], одним из ключевых факторов развития которой является накопление метилированных аналогов L-аргинина — асимметричного диметиларгинина (ADMA) и монометиларгинина (L-NMMA), являющихся эндогенными ингибиторами эндотелиальной синтазы окиси азота (eNOS), конкурируя с эндогенным субстратом для синтеза окиси азота — L-аргинином [15, 17, 19]. Обнаружено, что концентрации ADMA в материнской плазме гораздо выше у женщин с преэклампсией [15, 16] и что повышенные концентрации ADMA являются одними из предикторов преэклампсии [17, 20]. В ранее проведенных нами исследованиях показано, что дополнительное введение L-аргинина, как монотерапия, так и в сочетании с антигипертензивными средствами на ADMA-подобной модели — L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции эффективно увеличивало активность эндотелиальной NO-синтазы и продукцию окиси азота и предотвращало развитие эндотелиальной дисфункции у лабораторных крыс-самцов [3, 9, 10–12].

В связи с изложенным целью настоящей работы явилось изучение фармакологической коррекции ADMA-подобной L-NAME-индуцированной преэклампсии в эксперименте с помощью L-аргинина.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на белых крысах самках (беременных 14–16-е сутки) линии Вистар массой

250–300 г. Неселективный блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводили внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг/сут. На 8-й день от начала эксперимента (22–24-е сутки беременности) под наркозом (хлоралгидрат, 300 мг/кг) проводили сосудистые пробы на эндотелийзависимую и эндотелийнезависимую вазодилатацию с расчетом коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) [7, 10]. Беременные самки были разделены на группы ( $n = 10$ ): I — интактные; II — с введением L-NAME; III — с введением на фоне L-NAME L-аргинина (200 мг/кг в желудок) однократно.

Исследование микроциркуляции в плаценте и почках проводили с помощью оборудования компании Biopac systems: полиграф MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и датчиком TSD144. Регистрацию результатов ЛДФ проводили используя программу AcqKnowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (ПЕ) [12].

Суточную мочу собирали при помещении животных в метаболические клетки с последующим определением протеинурии.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Блокада NO-синтазы, вызванная 7-дневным введением L-NAME беременным крысам, приводила к нарушению взаимоотношений вазодилатирующих и вазоконстрикторных механизмов регуляции сосудистого тонуса, о чем свидетельствуют результаты сосудистых проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин) и эндотелийнезависимое (нитропруссид натрия) расслабление и увеличение КЭД с  $1,28 \pm 0,23$  у интактных беременных животных до  $3,06 \pm 0,32$  ( $p < 0,05$ ). Кроме того, наблюдался значительный подъем систолического и диастолического артериального давления с  $125 \pm 6,3$  и

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — М. В. Покровский) ГОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Росздрава», 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3.

82,0 ± 5,8 до 183,1 ± 9,4 и 136,7 ± 7,4 мм рт. ст. соответственно (таблица).

Введение L-NAME приводило также к протеинурии с 0,9 ± 0,1 г/л до 1,88 ± 0,19 г/л ( $p < 0,05$ ) (таблица).

Для более полной оценки нарушений, возникающих при моделировании данной патологии, было проведено исследование микроциркуляции в плаценте и корковом веществе левой почки. Введение блокатора NO-синтазы приводило к значительному снижению показателя микроциркуляции в плаценте с 425,9 ± 39,55 до 237,5 ± 38,18 ( $p < 0,05$ ). Микроциркуляция в почках практически не изменялась (таблица).

Таким образом, моделирование ADMA-подобной L-NAME-индуцированной преэклампсии в эксперименте у крыс характеризовалось выраженным повышением АД, явлениями эндотелиальной дисфункции, протеинурией и снижением плацентарной микроциркуляции.

Длительное, в течение 8 суток, ежедневное внутрижелудочное введение L-аргинина (200 мг/кг) на фоне L-NAME-индуцированной преэклампсии приводило к достоверному снижению КЭД до 1,5 ± 0,25, что в два раза меньше, чем у нелеченых животных ( $p < 0,05$ ).

Отмечалось также предотвращение увеличения артериального давления (таблица), однако значения не достигали целевого уровня.

Исследование микроциркуляции плаценты у животных, получавших L-аргинин (200 мг/кг), обнаружило ее существенное улучшение (почти в 2 раза), и значения не отличались от интактных беременных крыс. Параллельно обнаружено снижение протеинурии до уровня интактных животных 0,98 ± 0,11 г/л (таблица).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о способности L-аргинина оказывать выраженное протекторное действие на развитие ADMA-подобной L-NAME-индуцированной преэклампсии в эксперименте. Это сопровождается улучшением плацентарной микроциркуляции и коррекцией гипертензии и эндотелиальной дисфункции.

Патофизиологические изменения, возникающие при введении L-NAME, соответствуют ADMA-подобной экспериментальной модели дефицита окиси азота, которая может использоваться для адекватной скрининговой оценки эндотелиопротекторных эффектов биологически активных веществ [1, 2, 4–6, 8, 13, 14]. Помимо препятствования синтезу NO посредством

конкурентного ингибирования NOS, ADMA может способствовать разрыву (разобщению, “uncoupling”) ферментной активности NOS и преобразовывать NOS в генератор супероксида [6]. Предполагается, что такая “разрывающая” активность ADMA в дальнейшем способствует дисфункции сосудов и может играть значимую роль в патогенезе преэклампсии, выступая в качестве источника окислительного стресса сосудов [19, 20]. Следовательно, вероятной “мишенью” коррекции дисфункции эндотелия большинства антигипертензивных средств с доказанными плейотропными эндотелиопротекторными свойствами может являться только “ADMA-окислительный стресс”.

Следует отметить, что большая эффективность L-аргинина в проявлении эндотелиопротекторных эффектов связана также со значительной ролью ADMA в развитии дисфункции эндотелия при преэклампсии. Известно также и то, что некоторые болезненные состояния, сопровождающиеся повышенными уровнями ADMA, связаны с повышенным риском развития преэклампсии. Они включают гипертензию, дисфункцию почек, воспаление, диабет, гиперхолестеринемию, гипергомоцистеинемию, ожирение. Это доказывает предположение о том, что повышенные уровни асимметричного диметиларгинина могут стать потенциальной биологической конвергенцией состояний, которые повышают степень риска развития преэклампсии. Из этого следует, что включение L-аргинина в комплексную фармакологическую профилактику и терапию преэклампсии, определение режима его дозирования с целью преодоления конкурентных эффектов ADMA является патогенетически оправданным и подтверждается результатами наших экспериментов.

## ВЫВОДЫ

1. Моделирование ADMA-подобной L-NAME-индуцированной преэклампсии в эксперименте у беременных крыс характеризуется выраженным повышением артериального давления, явлениями эндотелиальной дисфункции, протеинурией и снижением плацентарной микроциркуляции.

2. L-аргинин (200 мг/кг) при введении L-NAME беременным крысам предотвращает развитие эндотелиальной дисфункции и корректирует артериальную гипертензию.

**Влияние L-аргинина (200 мг/кг) на показатели гемодинамики, микроциркуляции в плаценте и протеинурии при моделировании L-NAME-индуцированной преэклампсии у крыс ( $M \pm m$ ; в абсолютных значениях)**

Группа	САД	ДАД	КЭД, у. е.	Микроциркуляция в плаценте, ПЕ	Протеинурия, г/л
Интактные	125 ± 6,3 <sup>у</sup>	82,0 ± 5,8 <sup>у</sup>	1,28 ± 0,23 <sup>у</sup>	425,9 ± 39,55 <sup>у</sup>	0,90 ± 0,10 <sup>у</sup>
L-NAME	183,1 ± 9,4*	136,7 ± 7,4*	3,06 ± 0,32*	237,50 ± 38,18*	1,88 ± 0,19*
L-NAME + L-аргинин	151,2 ± 5,3 <sup>у</sup>	112,8 ± 6,8 <sup>у</sup>	1,50 ± 0,25 <sup>у</sup>	342,50 ± 29,33 <sup>у</sup>	0,98 ± 0,11 <sup>у</sup>

**Примечание.** САД, ДАД — систолическое и диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.); КЭД — коэффициент эндотелиальной дисфункции; \* —  $p < 0,05$  в сравнении с группой интактных животных; у —  $p < 0,05$  в сравнении с группой L-NAME.

3. L-аргинин при введении L-NAME у беременных крыс обеспечивает значительное улучшению микроциркуляторного плацентарного кровотока.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Б. Артющкова, М. В. Покровский, Т. Г. Покровская и др., *Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И. П. Павлова*, **4**, 42 – 48 (2008).
2. А. С. Белоус, М. В. Покровский, В. И. Кочкаров и др., *Кубанский научный медицинский вестник*, Краснодар, 1 – 2, 23 – 25 (2007).
3. Я. И. Залозных, Т. Г. Покровская, В. И. Кочкаров и др., *Кубанский научный медицинский вестник*, Краснодар, 1 – 2, 52 – 55 (2007).
4. М. В. Корокин М. В., Е. Н. Пашин, К. Е. Бобраков и др., *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье*, **4**, 11 – 19 (2009).
5. Л. В. Корокина, В. Г. Граник, В. А. Макаров и др., *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья*, **24**, 24 (2006).
6. Е. В. Лучкина, И. Н. Ершов, М. В. Покровский, Т. Г. Покровская, *Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова*, **2**, 58 – 62 (2009).
7. Пат. 2301015 Российская Федерация, МПК7 А61В 5 / 02. *Способ оценки эндотелиальной дисфункции* / М. В. Покровский, Т. Г. Покровская, В. И. Кочкаров. — № 2005113243 / 14, заявл. 10.1.2006; опубл. 20.06.07, Бюл. № 17.
8. Т. Г. Покровская, М. В. Покровский, В. И. Кочкаров и др., *Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова*, **2**, 126 – 132 (2008).
9. Т. Г. Покровская, В. И. Кочкаров, М. В. Покровский и др., *Кубанский научный медицинский вестник*, Краснодар, 1 – 2, 146 – 149 (2007).
10. М. В. Покровский, В. И. Кочкаров, Т. Г. Покровская и др., *Кубанский научный медицинский вестник*, Краснодар, 10, 72 – 77 (2006).
11. М. В. Покровский, Т. Г. Покровская, В. И. Кочкаров, Е. Б. Артющкова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(2), 29 – 31 (2008).
12. М. В. Покровский, Т. Г. Покровская, В. В. Гуреев и др., *Кубанский научный медицинский вестник*, Краснодар, **1**, 85 – 92 (2010).
13. К. В. Полонская, М. В. Покровский, Е. Б. Артющкова, *International Journal on Immunorehabilitation (Международный журнал по иммунореабилитации)*, **11**(1), 141b – 141b (2009).
14. В. Ю. Цепелев, М. В. Покровская, Т. Г. Покровская, М. В. Корокин., *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*, **8**(S2), 341a – 341 (2009).
15. R. H. Böger, et al., *Gynecol Obstet Invest.*, **1**, 1 – 13 (2009).
16. S. Grill, et al., *Reprod Biol Endocrinol.*, **7**, 70 – 73 (2009).
17. R. Powers, et al., *Hypertension*, **44**, 327 – 333 (2004).
18. J. M. Roberts, et al., *Hypertension*, **4**, 1231 – 1238 (2008).
19. M. D. Savvidou, et al., *Lancet*, **361**, 1511 – 1515 (2003).
20. P. D. Speer, et al., *Am. J. Obstet Gynecol.*, **1**, 112 – 117 (2008).

Поступила 07.02.11

## CORRECTION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION BY L-ARGININE UNDER EXPERIMENTAL PRE-ECLAMPSIA CONDITIONS

M. V. Pokrovskii\*, T. G. Pokrovskaya, V. V. Gureev, A. A. Barsuk, E. V. Proskuryakova, M. V. Korokin, O. S. Gudyrev, A. S. Belous, V. I. Kochkarov, L. M. Danilenko, O. V. Levashova, N. V. Mal'tseva, and O. S. Polyanskaya

Department of Pharmacology, Kursk State Medical University, ul. K. Marksa 3, Kursk, 305041, Russia

\* e-mail: mvpokrovskiy@pharmstd.ru

The ADMA-like pre-eclampsia in pregnant rats was modeled by daily introduction of L-NAME in a dose of 25 mg/kg for 7 days. L-arginine (200 mg/kg) prevented the development of arterial hypertension and a decrease in placentary microcirculation and microalbuminuria. The possibility of using L-arginine for the prevention of competitive eNOS inhibition by ADMA is discussed.

**Key words:** L-NAME, L-arginine, endothelial dysfunction, placentary microcirculation, arterial hypertension