

ЛИТЕРАТУРА

1. Савельев В. С., Буянов В. М., Огнев Ю. В. Острый панкреатит. М.: Медицина, 1983, 240 с., ил.
2. Савельев В. С., Гельфанд Б. Р., Гологорский В. А., Филимонов М. И., Бурневич С. З., Цыденжапов Е. Ц. Системная воспалительная реакция и сепсис при панкреонекрозе // Анестезиология и реаниматология. 1999. № 6. С. 28–33.
3. Огнев Д. В., Кригер А. Г. Нарушение гемоциркуляции при остром панкреатите // Вестн. хирургии, 1976, № 11. С. 124–125.
4. Acute pancreatitis Srinivasan Dubagunta, MD Christipher D. Still, DO Michael J. Komar, MD JAOA. Vol. 101, № 4, Supplement to April. 2001. P. 6–9.
5. Bone R. C. Toward an epidemiology and natural history of SIRS (systemic inflammatory response syndrome) JAMA, Dec 1992. Vol. 268. P. 3452–3455.
6. C. Imrie (Glasgow) and R. M. Schmid (Munich) Where and How Does Acute Pancreatitis Begin? Gastroenterology Week Freiburg (Part II) – Falk Symposium № 143 Freiburg (Germany), October 14–15, 2004.
7. Gut 1998; 42 (suppl 2). P. 1–13. United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis.

8. Wilson P. G., Manji M., Neoptolemos J. P. Acute pancreatitis as a model of sepsis J. Antimicrob. Chemother., Jan 1998. Vol. 41. P. 51–63.

**R. A. EMELIANOV, S. A. ALEHIN,
D. P. NAZARENKO, M. V. POKROVSKII,
T. G. POKROVSKAYA, E. B. ARTUSHKOVA,
M. P. GLADCHENKO**

STUDY OF MICROCIRCULATION BY LAZ- ERDOPPLER FLOWMETRY IN PANCREATIC GLAND DURING ACUTE EXPERIMENTAL PAN- CREATITIS

In our study we found significant decrease of pancreatic tissue perfusion measured by lazerdoppler flowmetry, according duration of the period after production of acute pancreatitis. These data correlate with death-rate and morphological changes in pancreatic gland.

**Я. И. ЗАЛОЗНЫХ, Т. Г. ПОКРОВСКАЯ, В. И. КОЧКАРОВ, М. В. ПОКРОВСКИЙ,
Е. Б. АРТЮШКОВА, М. П. ГЛАДЧЕНКО, Е. Г. ГУРЕЕВА, В. В. ГУРЕЕВ,
В. А. МАЛЫХИН, А. С. БЕЛОУС, А. С. МАЯКОВ**

ПРИМЕНЕНИЕ L-АРГИНИНА В КОМПЛЕКСЕ С АМЛОДИПИНОМ И ИНДАПАМИДОМ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ L-НАМЕ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

*Кафедра фармакологии, НИИ ЭМ ГОУ ВПО
«Курский государственный медицинский университет Росздрава»*

В настоящее время большое внимание в медицинской практике уделяется аминокислотам. Аминокислота аргинин является условно незаменимой аминокислотой, но ее недостаток ведет к быстрому развитию патологических процессов. Аргинин (α -амино- δ -гуанидино-валериановая кислота) – одна из самых поляризованных, положительно заряженных аминокислот. Метаболизм L-аргинина идет как минимум двумя альтернативными путями: 1) окисным (NO-синтазным) с образованием L-цитрулина и NO; 2) неокисным (аргиназным) с образованием L-орнитина и мочевины. Возможно одновременное протекание этих двух процессов [1]. NO, будучи высокореактивным и нестабильным соединением, является универсальным регулятором физиологических функций и мощным вазодилататором. Он обладает аутокринным и паракринным действием; способен оказывать влияние на биохимические и физиологические процессы не только в клетке, в которой он синтезирован, но и в соседних клетках. В условиях организма NO может связываться в относительно стабильные соединения и депонироваться в клетках или транспортироваться на расстояния, во много раз превышающие размеры клетки. В качестве депо NO высту-

пают динитрозильные комплексы железа с серосодержащими лигандами и S-нитротииоли (RS-NO) [1].

NO в организме животных и человека синтезируется из L-аргинина с помощью цитохром P450-подобных гемопротеинов – NO-синтаз. Молекулы синтаз содержат домены с оксигеназной и редуктазной активностью. По характеру индукции и действию они подразделяются на ряд типов: Ca^{2+} -независимая (индуцибельная, iNOS) NO-синтаза (2-й тип) и менее мощные конститутивные Ca^{2+} -зависимые и кальмодулинзависимые NO-синтазы – нейрональная (1-й тип, nNOS) и эндотелиальная (3-й тип, eNOS) изоформы. Конститутивные синтазы находят в нейронах, эндотелиоцитах, тромбоцитах, нейтрофилах и других клетках. nNOS является цитозольным белком, а eNOS – мембраносвязанным белком [6, 20].

Физиологическая активность оксида азота играет важную роль в функционировании различных систем организма. NO ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток, предотвращает хемотаксис моноцитов, подавляет адгезию лейкоцитов на эндотелиальных клетках, обладает цитопротективным эффектом [4]. Снижение синтеза NO приводит к таким явлениям, как вазоконстрикции (риск развития артериальной

гипертензии, стенокардия), свободнорадикальному повреждению мембран клеток (в том числе развитию атеросклероза), снижению противоопухолевой и противоинфекционной активности иммунной системы, угнетению сексуальной функции. Недостаточная продукция или ускоренный распад NO приводит к развитию тяжелых сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с нарушением функции эндотелия, патологическим повышением сосудистого тонуса и артериального давления. К их числу относятся артериальная гипертензия, атеросклероз, диабетическая ангиопатия и др. [2, 5, 10, 11, 14, 22, 24]. Лечение этих состояний требует компенсации недостаточной продукции эндотелиального NO. В клинике чаще всего это осуществляется с помощью нитроглицерина или нитропрусида натрия, которые применяют при стабильной и нестабильной стенокардии, инфаркте миокарда, застойной сердечной недостаточности [9, 21, 25]. При диабете, когда накапливающиеся продукты гликозирования усилительно разрушают NO, дефект вазодилатации можно скорректировать ингибированием гликозилирования аминокислотами. При эссенциальной и вторичной гипертензии, гиперхолестеринемии и посттрансплантационном состоянии достаточно успешно применяют L-аргинин, который вводят внутривенно или перорально [8, 10, 15]. Клиническое применение препаратов, содержащих аргинин, затрагивает широкий круг проблем современной теоретической и прикладной науки [12, 13, 16, 19]. Многие аспекты применения аргинина еще до конца не изучены и зачастую противоречивы [6, 26]. Тем не менее эта тема заслуживает пристального внимания и дальнейшей разработки. **Целью нашего исследования** являлось изучение коррекции эндотелиальной дисфункции, комбинаций амлодипина и L-аргинина и индапамида и L-аргинина при экспериментальном моделировании L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции.

Методы исследования

Опыты проводились на белых крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г. Неселективный блокатор NO-синтазы, N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился внутривенно в дозе 25 мг/кг/сут. На 7-й день от начала эксперимента под наркозом (этамивал-натрия 50 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД) во время проведения сосудистых проб, при исследовании сократимости миокарда крыс переводили на управляемое дыхание и зондировали иглой через верхушку сердца, полость левого желудочка, болюсное введение фармакологических агентов осуществлялось в правую бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), левожелудочковое давление (ЛЖД), максимальную скорость сокращения (+dp/dt max); максимальную скорость расслабления (-dp/dt max) – измерялись непрерывно посредством датчика P231D «Gould» (США) и компьютерной программы «Bioshell». Проводились следующие функциональные сосудистые пробы: эндотелийзависимая вазодилатация (ЭЗВ) – внутривенное введение ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг, эндотелийнезависимая вазодилатация (ЭНЗВ) – внутривенное введение нитропрусида натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг и нагрузочные ми-

окардиальные пробы: проба на адренореактивность (внутривенное введение адреналина гидрохлорида $1 \cdot 10^{-5}$ ммоль/л), нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 сек.). Исследуемые группы животных: I – интактные; II – с введением L-NAME; III – с введением на фоне L-NAME амлодипина (0,5 мг/кг внутривенно); IV – с введением на фоне L-NAME амлодипина (0,5 мг/кг внутривенно) и L-аргинина (200 мг/кг внутривенно); V – с введением на фоне L-NAME индапамида (2 мг/кг внутривенно); VI – с введением на фоне L-NAME индапамида (2 мг/кг внутривенно) и L-аргинина (200 мг/кг внутривенно).

Результаты исследования

Блокада NO-синтазы вызывала артериальную гипертензию (САД – $190,3 \pm 6,7$, ДАД – $145,0 \pm 3,9$, СрАД – $160,1 \pm 4,6$ мм рт. ст.) и приводила к меньшему снижению показателей АД после введения АХ (САД до $110,6 \pm 5,2$, ДАД до $82,8 \pm 6,6$, СрАД до $92,1 \pm 6,1$ мм рт. ст.) и НП (САД до $88,7 \pm 4,7$, ДАД до $50,8 \pm 4,2$ и СрАД до $63,4 \pm 4,1$ мм рт. ст.) по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$).

Одновременное введение L-NAME и амлодипина, L-NAME и индапамида не приводило к снижению показателей исходных значений АД, в группе с амлодипином, где еще дополнительно вводился L-аргинин, отмечалось потенцирование гипотензивного действия. Для дальнейшей оценки коррекции эндотелиальной дисфункции нами использован коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД), предложенный в нашей лаборатории и отражающий соотношения расчетных показателей ЭНЗВ и ЭЗВ [3]. Как видно из данных таблицы, L-аргинин усиливает эндотелиопротективные эффекты амлодипина и индапамида, приближая КЭД к группе интактных животных.

При проведении нагрузочных проб выявлено повышение абсолютных значений сократимости миокарда при моделировании дефицита NO, что, вероятно, связано с развитием компенсаторной гипертрофии. При этом было обнаружено выраженное снижение приростов показателей адренореактивности. Так, у интактных животных прирост ЛЖД составил в среднем $121,2 \pm 7,3$, у животных с L-NAME – $95,1 \pm 5,7$, в группе с амлодипином – $115,0 \pm 4,7$, с амлодипином+L-аргинин – $105,7 \pm 7,1$, с индапамидом – $107,1 \pm 7,3$, с индапамидом+L-аргинин – $97,5 \pm 5,8$ мм рт. ст. Таким образом, несмотря на исходное компенсаторное увеличение сократимости миокарда, отмечается снижение миокардиальных резервов. Наиболее выражено гемодинамические и скоростные показатели достоверно приближались по своим значениям к группе интактных у животных, получавших индапамид и L-аргинин.

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением наиболее показательны проявились кардиопротективные эффекты комбинаций с L-аргинином. Значение отношения прироста ЛЖД 25-й к 5-й секунде пережатия аорты у животных с L-NAME составило $66,0 \pm 2,3\%$, у интактных – $83,6 \pm 2,1\%$, при монотерапии амлодипином – $70,3 \pm 3,9$, индапамидом – $75,1 \pm 3,7\%$, в комбинациях амлодипин+L-аргинин – $78,2 \pm 3,9$, индапамид +L-аргинин – $80,1 \pm 3,8$ мм рт. ст.

Обсуждение

У лабораторных животных при моделировании эндотелиальной дисфункции введением ингибитора NO-синтазы L-NAME выявлена активизация эндотелиопротективных эффектов амлодипина

Динамика показателей АД и ЧСС при проведении функциональных сосудистых проб при моделировании дефицита оксида азота и коррекции эндотелиальной дисфункции амлодипином и индапамидом с использованием L-аргинина

Группы животных	Функциональные пробы	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	ЧСС, уд. в мин.	КЭД
Интактные	Исходные	137,7 ± 3,7	101,9 ± 4,3	420,0 ± 9,0	1,1 ± 0,1
	ЭЗВ с АХ	84,3 ± 4,5	38,7 ± 2,8	416,0 ± 14,0	
	ЭНЗВ с НП	83,0 ± 3,7	42,1 ± 4,4	415,0 ± 10,0	
L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*	428,0 ± 11	5,4 ± 0,6*
	ЭЗВ с АХ	110,6 ± 5,2*	82,8 ± 6,6*	426,0 ± 14,0	
	ЭНЗВ с НП	88,7 ± 4,7	50,8 ± 4,2	426,0 ± 13,0	
L-NAME (25 мг/кг)+амлодипин (0,5 мг/кг)	Исходные	186,3 ± 15,2	131,1 ± 7,0	410,0 ± 10,0	2,1 ± 0,3**
	ЭЗВ с АХ	93,1 ± 6,0*	71,6 ± 9,0*	390,0 ± 7,7	
	ЭНЗВ с НП	80,2 ± 7,7	44,1 ± 6,6	420,0 ± 11,0	
L-NAME (25 мг/кг)+амлодипин (0,5 мг/кг)+L-аргинин (200 мг/кг)	Исходные	144,8 ± 7,6**	111,8 ± 7,6**	390,0 ± 9,7	1,5 ± 0,1***
	ЭЗВ с АХ	77,0 ± 5,3**	47,1 ± 5,7**	379,0 ± 5,7	
	ЭНЗВ с НП	74,4 ± 8,0	42,8 ± 5,1	393,0 ± 6,7	
L-NAME (25 мг/кг)+индапамид (2 мг/кг)	Исходные	191,4 ± 10,0	140,4 ± 2,4	405,0 ± 10,0	3,3 ± 0,4**
	ЭЗВ с АХ	94,9 ± 5,4*	60,6 ± 4,5*	380,0 ± 7,7	
	ЭНЗВ с НП	85,2 ± 3,3	43,8 ± 4,9	420,0 ± 11,0	
L-NAME (25 мг/кг)+индапамид (2 мг/кг)+L-аргинин (200 мг/кг)	Исходные	183,9 ± 6,8***	137,7 ± 6,6***	390,5 ± 9,7	2,3 ± 0,2***
	ЭЗВ с АХ	87,0 ± 4,5***	57,1 ± 1,4***	379,7 ± 5,7	
	ЭНЗВ с НП	80,4 ± 5,2	40,8 ± 5,2	393,0 ± 6,7	

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных;
 ** – $p < 0,05$ в сравнении с группой L-NAME+амлодипин;
 *** – $p < 0,05$ в сравнении с препаратом сравнения.

и индапамида при сочетанном их введении с L-аргинином. Это положение подтверждается обобщающими расчетными показателями функциональных проб на сосудистую реактивность, наиболее выражено сочетанный эффект проявился в группе индапамид + L-аргинин.

Результаты проведенных нагрузочных проб также указывают на усиление инотропного резерва у животных, леченных комбинацией L-аргинина с амлодипином и индапамидом. Наибольшей эффективностью также обладало сочетание L-аргинина и индапамида.

Основным возможным эффектом влияния L-аргинина на активизацию коррекции эндотелиальной дисфункции является опосредованный механизм действия индапамида при эндотелиальной дисфункции, связанный с его антиоксидантными свойствами и, как следствие, повышением биодоступности оксида азота (NO) вследствие уменьшения его разрушения, а также повышением синтеза простагландина E_2 и простациклина I_2 , в то время как одним из главных факторов развития данного патофизиологического состояния при моделировании дефицита NO является снижение активности eNOS. По-видимому, увеличение количества субстрата для образования дополнительных количеств NO, с одной стороны, и активизация eNOS, с другой, приводят к увеличению базального освобождения ок-

сида азота и дополнительной коррекции эндотелиальной дисфункции.

Результаты исследования эндотелио- и кардиопротективных эффектов комбинаций L-аргинина с амлодипином и индапамидом доказывают их оправданность и позволяют рекомендовать их к клиническому изучению. Для уточнения роли и места эндотенного донора NO в коррекции эндотелиальной дисфункции требуется проведение дополнительных исследований эндотелиопротективных эффектов L-аргинина в эксперименте в других условиях моделирования дефицита оксида, что и является направлением дальнейшей работы кардиофармакологической лаборатории Курского государственного медицинского института.

Поступила 01.12.2006

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванин А. Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестн. РАМН. 2000. № 4. С. 3–5.
2. Котюжинская С. Г., Котюжинский А. И. Влияние оксида азота на фибринолитическую систему // Физиол. журн. 2000. № 2. С. 8–9.
3. Покровский М. В. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота

в эксперименте // Кубанский научный медицинский вестник. Краснодар, 2006. № 10. С. 72–77.

4. Манухина Е. Б., Лямина Н. П., Долотовская П. В. и др. Роль оксида азота и свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии // Кардиология. 2002. Т. 42, № 11. С. 73–84.

5. Романовская Г. А., Акатова Е. В., Гороховская Г. Н. и др. Перспективы медикаментозного лечения эндотелиальной дисфункции // Фарматека. 2006. № 9. С. 50–56.

6. Степанов Ю. М., Кононов И. Н., Журбина А. И. и др. Аргинин в медицинской практике (Обзор литературы) // Сучасна гастроентерология. 2005. № 4. С. 121–127.

7. Созыкин А. В., Ноева Е. А., Балахонова Т. В. и др. Влияние L-аргинина на агрегацию тромбоцитов, функцию эндотелия и толерантность к физической нагрузке у пациентов со стабильной стенокардией напряжения // Тер. арх. 2000. № 8. С. 24–27.

8. Davis M. R., Ortegón D. P., Kerby J. D., et al. Endothelial dysfunction after arterial thrombolysis is ameliorated by L-arginine in combination with thrombolysis // J. Vasc. Interv. Radiol. 2003. V. 14 (2 Pt 1). P. 233–239.

9. Der Sarkissian E. L., Marchand D., Duguay D. Synergistic interaction between enalapril, L-arginine and tetrahydrobiopterin in smooth muscle cell apoptosis and aortic remodeling induction in SHR // Br. J. Pharmacol. 2004. V. 142 (5). P. 912–918.

10. Mendes Ribeiro A. C., Brunini T. M., Ellory J. C. et al. Abnormalities in L-arginine transport and nitric oxide biosynthesis in chronic renal and heart failure // Cardiovasc. Res. 2001. V. 49 (4). P. 697–712.

11. Sharifi A. M., Li J. S., Endemann D. et al. Effects of enalapril and amlodipine on small-artery structure and composition, and on endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats // J. Hypertens. 1998. V. 16 (4). P. 457–466.

12. Boger R. H. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the «L-arginine paradox» and acts as a novel cardiovascular risk factor // J. Nutr. 2004. V. 134 (10). P. 2842–2847.

13. Boger R. H. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor // Altern. Med. Rev. 2005. V. 10 (1). P. 14–23.

14. Bragulat E., Ritter J. M., Antonio M. T. et al. Endothelial dysfunction in salt-sensitive essential hypertension // Hypertension. V. 37. P. 444–448.

15. Gokce N. L-arginine and hypertension // J. Nutr. 2004. V. 134 (10 Suppl). P. 2807–2811.

16. Gornik H. L., Creager M. A. Arginine and endothelial and vascular health // J. Nutr. 2004. V. 134 (10 Suppl). P. 2880–2887.

17. Lekakis J. P., Papaathanassiou S., Papaioannou T. G. et al. Oral L-arginine improves endothelial dysfunction in patients with essential hypertension // Int. J. Cardiol. 2002. V. 86 (2–3). P. 317–323.

18. Lim D. S., Mooradian S. J., Goldberg C. S. et al. Effect of oral L-arginine on oxidant stress, endothelial dysfunction, and systemic arterial pressure in young cardiac transplant recipients // Am. J. Cardiol. 2004. V. 94 (6). P. 828–831.

19. Mac Mahon N. B., Cauman S. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood pressure lowering drugs results of prospectively designed overviews of randomized trials. BPLTCT // Lancet. 2004. V. 345. P. 1076–1078.

20. Napoli C., Ignarro L. J. Nitric oxide and atherosclerosis // Nitric Oxide. 2001. V. 5. P. 88–97.

21. Pallosi A., Fragasso G., Piatti P. et al. Effect of oral L-arginine on blood pressure and symptoms and endothelial function in patients with systemic hypertension, positive exercise tests, and normal coronary arteries // Am. J. Cardiol. 2004. V. 93 (7). P. 933–935.

22. Rasmussen C., Cynober L., Couderc R. Arginine and statins: relationship between the nitric oxide pathway and the atherosclerosis development // Ann. Boil. Clin. 2005. V. 63 (5). P. 443–455.

23. Rector T. S., Bank A. J., Mullen K. A. et al. Randomized, double-blind, placebo controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure // Circulation. 1996. V. 93. 2135–2141.

24. Richard V., Joannides R., Henry J. P. et al. Fixed-dose combination of perindopril with indapamide in spontaneously hypertensive rats: haemodynamic, biological and structural effects // J. Hypertens. 1996. Dec. Vol. 14 (12) P. 1447–1454.

25. Schmieeder R. E. Endothelial dysfunction: how can one intervene at the beginning of the cardiovascular continuum? // J. Hypertens. 2006. V. 24 (2). P. 31–35.

26. Tapiero H., Mathe G., Couvreur P. et al. L-Arginine // Biomed. Pharmacother. 2002. V. 56 (9). P. 439–445.

**J. I. ZALOZNYH, T. G. POKROVSKAJA,
V. I. KOCHKAROV, M. V. POKROVSKII,
E. B. ARTJUSHKOVA, M. P. GLADCHENKO,
E. G. GUREEVA, V. V. GUREEV, V. A. MALYHIN,
A. S. BELOUS, A. S. MAJAKOV**

**APPLICATION L-ARGININE IN THE
COMPLEX WITH AMLODIPINE AND
INDAPAMIDE AT EXPERIMENTAL MODELLING
L-NAME INDUCED ENDOTHELIAL
DYSFUNCTIONS**

Now the big attention in a medical practice is given amino acids L-arginine. At laboratory animals at modelling endothelial dysfunctions by introduction inhibitor NO-synthase L-NAME activation endothelioprotective effects amlodipine and indapamide is revealed at combination their introduction c L-arginine. This position proves to be true generalizing settlement parameters of functional tests on vascular reactance, most significant additive effect was showed in group indapamide + L-arginine.

Key words: endothelial dysfunctions, L-NAME, amlodipine, indapamide, L-arginine.