



ЭНДОТЕЛИО- И КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРЕПАРАТА ЭТОКСИДОЛ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

Н.В. Стабровская¹

В.А. Рагулина¹, М.В. Корокин¹

М.В. Покровский², Т.Г. Покровская²

О.С. Гудырев¹, И.М. Колесник¹

¹ Курский государственный
медицинский университет

² Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: wanda.kahovsky@gmail.com

Проведено исследование эндотелио- и кардиопротективных эффектов препарата «Этоксидол» (ВНЦ БАВ Московская обл., Старая Купавна, Россия) при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. Обнаружено, что «Этоксидол» в дозе 25 мг/кг в равной степени предотвращает развитие L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции, повышение адренореактивности и снижение миокардиального резерва в эксперименте.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, этоксидол, L-NAME, антиоксиданты.

Клетки эндотелия представляют собой самый первый барьер между циркулирующей кровью и тканями, регулирующий проникновение жидкости и растворенных в ней веществ, макромолекул, клеточных элементов и лекарств из крови в прилежащую ткань. В настоящее время известно, что эндотелий контролирует сосудистый тонус, рост гладкомышечных клеток, тромбообразование, фибринолиз и многие другие процессы. Установлено, что эндотелий регулирует сосудистый тонус через освобождение сосудорасширяющих и сосудосуживающих факторов и модулирует сократительную активность гладкомышечных клеток. К эндотелиальным факторам дилатации относятся: фактор гиперполяризации эндотелия, простагландин I₂ (PGI₂), монооксид азота (NO), натрий-уретический пептид С типа, адреномедулин. К факторам констрикции – эндотелин, тромбоксан А₂, простагландин F_{2a}, эндопероксиды и другие. Выстилая сосудистое русло изнутри, эндотелиальные клетки представляют мишень для воздействия гемодинамических, биохимических и иммунных факторов циркулирующей крови. В условиях физиологической нормы эндотелиальные клетки обеспечивают адаптацию сосудов к перечисленным факторам. Однако в условиях патологии функция эндотелиальных клеток нарушается, приводя к прогрессированию сосудистой патологии [3, 15, 17].

В последние годы публикуется много экспериментальных и клинических работ, посвященных роли эндотелиальной дисфункции (ЭД) в возникновении и прогрессировании ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда и другие).

В основе эндотелиальной дисфункции лежит ряд механизмов, одним из которых является дисбаланс выработки NO на фоне повышенной продукции реактивных форм кислорода. Один из механизмов состоит в том, что оксидативный стресс инактивирует NO. На развитие ЭД влияет уменьшение биодоступности NO (в результате снижения выработки или повышенной инактивации). В основе модуляции эндотелиальной дисфункции лежит баланс между NO и активными формами кислорода (АФК) [3, 4, 16].

Все описанные нарушения могут серьезно или полностью дезорганизовать функционирование клеток и организма в целом, утяжелить или даже вызвать серьезные болезни и привести к смерти или наследственной патологии.

Экспериментальные работы по моделированию артериальной гипертензии у животных показали, что увеличение активных форм кислорода приводит к эндотелиальной дисфункции, которая подтверждается улучшением эндотелийзависимой релаксации при применении антиоксидантов. Развитие эндотелиальной дисфункции при избыточном образовании активных форм кислорода подтверждено на экспериментальных моделях сахарного диабета 2-го типа и хронической почечной недостаточности у животных [10].



Целью настоящего исследования является изучение влияния нового производного 3-гидроксипиридонов на коррекцию экспериментальной эндотелиальной дисфункции. Ярким представителем данной группы лекарственных средств является 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат, выпускаемый под коммерческими названиями «мексидол» и «мексикор» [6, 7, 8]. В то же время среди различных солей 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина имеются вещества, не уступающие, а иногда превосходящие янтарнокислую соль по своей фармакологической активности. Одним из таких соединений является яблочнокислая соль 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина, запатентованная под названием «этоксидол» (ВНЦ БАВ, Московская обл., Старая Купавна). Исследованию коррекции эндотелиальной дисфункции и посвящена настоящая работа.

Материалы и методы исследования. Опыты проводились на белых крысах-самцах линии Wistar массой 180-200г. N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился внутривенно ежедневно в дозе 25 мг/кг/сут. в течение 7 суток. «Этоксидол» (ВНЦ БАВ Московская обл., Старая Купавна, Россия) вводили внутривенно в дозе 25 мг/кг в течение 7 суток в утренние часы. На 7 день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД), болюсное введение фар-макологических агентов осуществляли в правую бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) – измеряют непрерывно посредством датчика и компьютерной программы «Віорас». Функциональные пробы: эндотелий зависимая вазодилатация (ЭЗВД) [15], внутривенное введение ацетилюлина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100г массы тела животного, а также изменения параметров гемодинамики в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100г массы тела животного (ЭНВД) [2].

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных, находящихся на управляемом дыхании, катетеризировали полость левого желудочка и проводили нагрузочные пробы в представленной последовательности:

1. Проба на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, (из расчета 0,1 мл на 100 г). При проведении данной пробы проводилась оценка максимального подъема левожелудочкового давления (ЛЖД) в ответ на введение адреналина.

2. Нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 с. После проведения данной пробы рассчитывался показатель истощения миокардиального резерва (выраженный в процентах), равный отношению прироста ЛЖД на 5 секунде пережатия аорты к приросту ЛЖД на 25 секунде пережатия аорты.

3. 3-минутная гипоксия посредством выключения аппарата искусственной вентиляции легких с последующей реоксигенацией.

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (ЭНВД) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (ЭЗВД) [5].

Результаты подвергали статистической обработке путем расчета средней арифметической (M) и ошибки средней арифметической (+m).

Достоверность различий между средними определяли по непарному t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты исследования эндотелиопротективного действия препарата в опытах на крысах. Согласно дизайну исследования в контрольной группе животных эндотелиальную дисфункцию моделировали ежедневным в течение 7 суток внутривенным введением L-NAME в дозе 25 мг/кг. «Этоксидол» (ВНЦ БАВ Московская обл., Старая Купавна, Россия) вводили внутривенно в дозе 25 мг/кг в течение 7 суток в утренние часы.

По протоколу на восьмые сутки наркотизированное животное брали в эксперимент.



Одновременное введение L-NAME и этоксилола привело к оптимальному снижению показателей исходных значений АД, так как исходные цифры АД были ниже: САД – 156,5±8,6, ДАД – 114,7±12,2 мм рт. ст. Также отмечалось потенцирование снижения показателей артериального давления в ответ на введение АХ (табл. 1).

Таблица 1

Влияние препарата «Этоксидол» на показатели гемодинамики при моделировании L-NAME (25 мг/кг внутрибрюшинно однократно в течение 7 дней)-индуцированного дефицита оксида азота (M±m в абсолютных значениях, n=10)

Группы животных	Функциональные пробы	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
	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
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*	428,0 ± 11
	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)+этоксидол (25 мг/кг)	Исходные	156,5 ± 8,6**	114,7 ± 12,2**	350,0 ± 16,2
	ЭЗВ с А,Х	94,0 ± 6,4**	55,0 ± 4,9**	322,0 ± 12,8
	ЭНЗВ с НП	103,8 ± 6,7	51,8 ± 4,8	355,9 ± 14,9

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с группой интактных;

** – p<0,05 в сравнении с группой животных, получавших L-NAME.

Коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД). В табл. 2 представлены результаты функциональных проб на эндотелийзависимое (внутривенозное введение ацетилхолина в дозе 40 мкг/кг) и эндотелийнезависимое (внутривенозное введение раствора нитропруссид натрия в дозе 30 мкг/кг) расслабление сосудов у животных с L-NAME-индуцированной патологией на лечения исследуемым препаратом с последующим расчетом КЭД. Обнаружено, что препарат «Этоксидол» в дозе 25 мг/кг снижал КЭД до 2,3±0,2, тогда как в группе животных, получавших L-NAME коэффициент составил 5,4±0,6 (табл.2).

Таблица 2

Влияние препарата «Этоксидол» на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME (25 мг/кг внутрибрюшинно, однократно в течение 7 дней)-индуцированного дефицита оксида азота (M±m в абсолютных значениях, n=10)

Группы животных	Функциональные пробы	Прирост падения сосудистой реакции по СрАД (мм рт. ст.)	Время сосудистой реакции (с)	Площадь сосудистой реакции (усл. ед)	Отношение площадей сосудистой реакции АХ к НП
Интактные	АХ	59,9±2,9	42,2±0,8	1268,0±74,8	1,1±0,1
	НП	61,0±3,0	45,1±1,0	1375,3±93,7	
L-NAME	АХ	68,0±4,1	20,0±1,4	695,3±87,6*	5,4±0,6*
	НП	98,0±2,0	67,4±1,4	3322,7±116,7*	
L-NAME +этоксидол 25 мг/кг	АХ	68,0±4,9	49,2±4,3**	1560,8±330,1**	2,3±0,2**
	НП	69,2±4,1	93,5±8,1**	3363,9±454,1**	

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с группой интактных;

** – p<0,05 в сравнении с группой животных, получавших L-NAME.



Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об эффективном снижении КЭД под влиянием исследуемого препарата у животных с моделированием L-NAME-индуцированной артериальной гипертензией.

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных с L-NAME-индуцированным дефицитом оксида азота проводились нагрузочные пробы (табл. 3).

Максимальное ЛЖД при проведении пробы на адренореактивность в группе интактных животных составило $199,2 \pm 8,3$ мм рт.ст. Исследуемый препарат в дозе 25 мг/кг предотвращал повышение адренореактивности, вызванное L-NAME-индуцированной патологией, и снижал максимальное ЛЖД в ответ на в/в введение адреналина до $210,3 \pm 4,2$ мм рт. ст.

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением этоксидол предотвращал истощение миокардиального резерва. Так, на 25 секунде проведения пробы данный показатель у интактных животных составил 83,6%. В контрольной группе L-NAME – индуцированный дефицит оксида азота – 66,0%. Тогда как результаты у животных, получавших этоксидол в дозе 25 мг/кг, составили 71,4% (табл. 3).

Таблица 3

Влияние препарата «Этоксидол» на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования дефицита оксида азота введением L-NAME в дозе 25 мг/кг внутривенно (M±m в абсолютных значениях, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (ЛЖД, мм.рт.ст.)	Истощение миокардиального резерва (%)
Интактные животные	$199,2 \pm 8,3$	$83,6 \pm 2,1$
L-NAME	$247,3 \pm 4,8^x$	$66,0 \pm 2,3^x$
L-NAME + «Этоксидол» (25 мг/кг)	$210,3 \pm 4,2^y$	$71,4 \pm 2,4^y$

Примечание: y – в сравнении с группой L-NAME, x – в сравнении с интактными животными.

Кардиопротективные эффекты также наблюдались, но уже на уровне метаболического ацидоза и, следовательно, коррекции редокс-потенциала окислительно-фосфорилированных процессов метаболизма миокарда обнаружены на примере результатов гипоксической пробы. У интактных животных прирост сократимости, выражающийся в увеличении ЛЖД, в ответ на 3-минутную гипоксию по сравнению с исходным ЛЖД, составил $104 \pm 7,4$ мм рт. ст. Вместе с тем, у животных с моделированием блокады NO-синтазы прирост ЛЖД составил лишь $54,7 \pm 4,9$ мм рт. ст. При этом наблюдались полиморфные нарушения ритма и экстрасистолы, в 3 случаях из 13, приведшие к фатальным нарушениям ритма или невыходом животных из гипоксической брадикардии и гипотензии. В группе животных, получавших этоксидол в дозе 25 мг/кг, прирост ЛЖД составил 97,4 мм рт. ст. Этоксидол в дозе 25 мг/кг не только увеличивал амплитуду ЛЖД при реоксигенации, но и полностью предотвращал гибель животных в ответ на 3-минутную гипоксическую пробу.

Заключение. Новое производное 3-гидроксипиридина «Этоксидол» (ВНЦ БАВ Московская обл., Старая Купавна, Россия) проявляет выраженное эндотелиопротективное действие на модели L-NAME индуцированного оксида азота, что выражалось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД). Одновременно выявлено кардиопротективное действие нового препарата «Этоксидол», выражающееся в снижении адренореактивности, предотвращении истощения миокардиального резерва и увеличении прироста ЛЖД при реоксигенации.

Таким образом, полученные результаты позволяют констатировать, что исследуемый новый препарат «Этоксидол» является перспективным эндотелио- и кардиопротективным средством и рекомендуется для дальнейших широких клинических исследований.

Литература

1. Артюшкова, Е. Б. Метаболическая и антиоксидантная терапия L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции / Е.Б. Артюшкова, М.В. Покровский, Е.В. Артюшкова и др. Кубанский научный медицинский вестник. – 2008. – № 3-4. – С. 73-78; 2009. – № 4. – С. 104-108.



2. Гацура, В. В. Противоишемический и кардиопротективный эффект мексидола / В. В. Гацура, В. В. Пичугин, Л. Н. Сернов и др. // Кардиология. – 1996. – № 1. – С. 59–62.
3. Голиков, А. П. Свободнорадикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами / А. П. Голиков, С. А. Бойцов, В. П. Михин и др. // Леч. врач. – 2003. – № 4. – С. 70–74.
4. Граник, В. Г. Оксид азота (NO) / В. Г. Граник, Н. Б. Григорьев // Новый путь к поиску лекарств: Монография. – М.: Вузовская книга, 2004. – 360 с.: ил.
5. Корокин, М. В. Изучение эндотелиопротективного и коронарного действия производных 3-оксипиридина / Корокин М. В., Пашин Е. Н., Бобраков К. Е. и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – Краснодар. – 2009. – № (90). – С. 137–140.
6. Марков, Х. М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиол. наук. – 2001. – Т. 32, № 3. – С. 49–65.
7. Марков, Х. М. Сосудистые эффекты липопротеинов и оксид азота: клеточные и молекулярные механизмы // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2006. – № 3. – С. 2–7.
8. Покровский, М. В. Исследование кардиопротективного действия каптоприла в эксперименте с регистрацией трансмуральной компрессии в очаге ишемии / М. В. Покровский, Д. Е. Скопин, Е. Б. Артюшкова и др. // Человек и лекарство: Тез. докл. IV Рос. нац. конгр. (8–12 апр. 1997 г.). – М., 1997. – С. 102.
9. Покровский, М. В. Новый взгляд на коррекцию эндотелиальной дисфункции / М. В. Покровский, В. И. Кочкаров, Т. Г. Покровская и др. // Российский журнал иммунологии. – 2006. – Т. 9. – С. 60–61.
10. Репин, А. Н. Оценка кардиопротективного действия эмоксипина при тромболитической реперфузии миокарда // Кардиология. – 1994. – Т. 3, № 34. – С. 4–7.
11. Boger, R. H. Dietary L-arginine reduces the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits – comparison with lovastatin / R. H. Boger, S. M. Bode-Boger, R. P. Brandes et al. // Circulation. – 1997. – № 96. – P. 1282–1290.
12. Suzuki, T. Eicosapentaenoic acid protects endothelial cells against anoikis through restoration of cFLIP / T. Suzuki, K. Fukuo, T. Suhara et al. // Hypertension. – 2003. – № 42. – P. 342–348.
13. Heitzer, T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease / T. Heitzer, T. Schlinzig, K. Krohn, T. Meinertz, T. Munzel // Circulation. – 2001. – № 104. – P. 2673–2678.
14. Stanner, S.A. A review of the epidemiological evidence for the antioxidant hypothesis / Stanner, S.A. et al. // Public. Health. Nutr. – Vol. 7 – P. 407–422.
15. Heitzer, T. / Heitzer T., Schlinzig T., Krohn K. et al. // Circulation. – 2001. – Vol. 104. – № 22. – P. 2638–2646.
16. Herbst, U. / Herbst U., Toborek M., Kaiser S. et al. // J. Cell. Physiol. – 1999. – Vol. 181. – P. 295–303.
18. Somers, M. J. / Somers M. J., Harrison D. J. // Curr. Hypertens. Rep. – 1999. – Vol. 1. – P. 102–108.
19. Taniyama, Y. / Taniyama Y., Griendling K. K. // Hypertension. – 2003. – Vol. 42. – № 6. – P. 1075–1081.
20. Touys, R. M. // Curr. Hypertens. Rep. – 2000. – Vol. 2. – P. 98–105.

ENDOTHELIUM- AND CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF ETOXIDOL AT MODELING L-NAME-INDUCED SHORTAGE OF NITRIC OXIDE

N.V. Stabrovskaya¹

V.A. Ragulina¹, M.V. Korokin¹

M.V. Pokrovskiy², T.G. Pokrovskaya²

O.S. Gudyrev¹, I.M. Kolesnik¹

¹*Kursk State Medical University*

²*Belgorod National Research University*

e-mail: wanda.kahovsky@gmail.com

Endothelial and cardioprotective effects of the drug Etoxidol (VNC BAV Staraya Kupavna, Moscow region) at modeling L-NAME-induced deficiency of nitric oxide were studied.

It was found that "Etoxidol" at dose of 25 mg/kg equally prevents development of L-NAME-induced endothelial dysfunction, increase adrenoactivity and reduce myocardial reserve in the experiment.

Key words: endothelial dysfunction, Etoxidol, L-NAME, antioxidants.