



УДК 615.225.2 : 616.018.74.008.6 – 092.4

ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРА АРГИНАЗЫ L-НОРВАЛИНА И ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ АМЛОДИПИНА И ЛОЗАРТАНА В ОДНОЙ ТАБЛЕТКЕ

**Е.Г. ТЕРЕХОВА¹, М.В. ПОКРОВСКИЙ²
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ², А.В. БАБКО¹
М.В. КОРОКИН², О.С. ГУДЫРЕВ²
Н.В. ЮДИНА¹**

*¹Курский государственный
медицинский университет*

*²Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: alena171211@rambler.ru

В результате исследования было показано, что фиксированная комбинация (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) оказывает выраженное эндотелиопротективное действие на модели L-NAME-индуцированного дефицита NO, что выражалось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Сочетанное применение фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) и L-норвалина позволило обнаружить положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в снижении КЭД до уровня интактных животных и достижении целевых значений артериального давления.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, L-норвалин, амлодипин, лозартан.

В последние годы публикуется много экспериментальных и клинических работ, посвященных роли эндотелиальной дисфункции (ЭД) в возникновении и прогрессировании ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, ГБ, ишемическая болезнь сердца (ИБС), инфаркт миокарда (ИМ) и др.) [3, 6, 7]. Проявления дисфункции эндотелия некоторые исследователи связывают с недостатком продукции или биодоступности оксида азота (NO) в стенке артерий [11]. Другие — с дисбалансом между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов, с одной стороны, и вазоконстрикторных, протромботических, пролиферативных факторов — с другой [2]. Основную роль в механизме развития ЭД играют окислительный стресс, продукция мощных вазоконстрикторов (эндопероксиды, эндотелины, АТII), а также цитокинов и фактора некроза опухоли, которые подавляют продукцию NO [9, 10]. В организме источником оксида азота служит L-аргинин. В цикле мочевины метаболизм L-аргинина протекает по двум путям. Первый путь катализирует фермент аргиназа, под действием которого L-аргинин гидролизуется в орнитин и мочевину. Другой путь превращения L-аргинина в оксид азота и цитрулин катализируется NO-синтазой. Оба фермента конкурируют между собой за общий субстрат L-аргинин. По данным современных исследований, аргиназа по своей активности в тысячу раз превышает NO-синтазу. Таким образом, L-аргинин расходуется на синтез орнитина и мочевины, и лишь небольшая часть — на синтез NO [4, 5]. Возможность блокады аргиназы позволила бы в значительной мере увеличить биодоступность оксида азота. С этой целью в настоящее время изучается группа веществ — ингибиторы аргиназы. Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелиопротективного действия ингибитора аргиназы L-норвалина в сочетании с кардиотропными препаратами с доказанной эндотелиотропной активностью — лозартаном и амлодипином, в условиях L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы. Опыты проводили на самцах белых крыс линии Вистар массой 230-280 г. Для моделирования эндотелиальной дисфункции внутрибрюшинно вводился блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней. На 8-й день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД). Болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) — измеряют непрерывно посредством датчика и компьютерной программы "Viorac". Помимо измерения АД проводили ряд функциональных тестов с последующей оценкой изменения параметров гемодинамики (САД, ДАД, ЧСС) в ответ на внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного

(ЭЗВД), 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 100 г массы тела животного (ЭНВД). Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами 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). Экспериментальные животные были разделены на группы (n=10): I – интактные; II – с введением L-NAME; III – с введением на фоне L-NAME L-норвалина внутривенно в дозе 10 мг/кг; IV – с введением на фоне L-NAME фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) внутривенно однократно в сутки в течение 7 дней; V – с введением на фоне L-NAME фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) L-норвалина в дозе 10 мг/кг внутривенно однократно в сутки в течение 7 дней. Результаты подвергали статистической обработке путем расчета средней арифметической (M), ошибки средней арифметической ($\pm m$) и оценки достоверности различий сравниваемых параметров с использованием t-test для групп с равной дисперсией, уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования. Ежедневное в течение 7 суток внутривенное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг привело к стойкому повышению АД до значений САД $190,3 \pm 6,7$ мм рт. ст. и ДАД $145,0 \pm 3,9$ мм рт. ст. по сравнению с группой интактных животных, где САД – $137,7 \pm 3,7$ мм рт. ст. и ДАД – $101,9 \pm 4,3$ мм рт. ст. Введение L-норвалина в дозе 10 мг/кг достоверно не снижало АД (САД $180 \pm 4,7$ мм рт. ст., ДАД $144,6 \pm 10,2$ мм рт. ст.). Введение фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и амлодипина в дозе 0,8 мг/кг в одной таблетке приводило к снижению АД у крыс, и значения САД и ДАД составляли: САД – $133,7 \pm 3,9$ мм рт. ст., ДАД – $106,5 \pm 3,6$ мм рт. ст. Сочетанное введение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и амлодипина в дозе 0,8 мг/кг в одной таблетке также вызывало снижение АД: САД – $132,5 \pm 1,6$ мм рт. ст., ДАД – $104,5 \pm 2,5$ мм рт. ст. Результаты проведения функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME-индуцированной патологией на фоне лечения исследуемыми препаратами позволили установить достоверное снижение КЭД по сравнению с группой животных, не получавших лечения. Наиболее выраженное эндотелиопротективное действие оказывало сочетание L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и амлодипина в дозе 0,8 мг/кг в одной таблетке, КЭД которой был наиболее близок к группе интактных животных (таблица).

Таблица

Влияние фиксированной комбинации амлодипина и лозартана и сочетанного применения данной комбинации с L-норвалином на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME – индуцированного дефицита оксида азота ($M \pm m$, n=10)

Группы животных	Функциональная проба	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст	ЧСС, уд/мин	S сосудистой реакции при проведении ЭЗВД с АХ и ЭНВД с НП, усл. ед.	КЭД, усл. ед.
1	2	3	4	5	6	7
Интактные	Исходные	$137,7 \pm 3,7$	$101,9 \pm 4,3$	$389,1 \pm 21,9$		$1,1 \pm 0,1$
	АХ	$84,3 \pm 4,5$	$38,7 \pm 2,8$	$371,4 \pm 18,2$	$1268,0 \pm 74,8$	
	НП	$83,0 \pm 3,7$	$42,1 \pm 4,4$	$384,5 \pm 14,1$	$1375,3 \pm 93,7$	
L-NAME 25 мг/кг	Исходные	$190,3 \pm 6,7^*$	$145,0 \pm 3,9^*$	$379,9 \pm 14,8$		$5,4 \pm 0,6^*$
	АХ	$110,6 \pm 5,2^*$	$82,8 \pm 6,6^*$	$374,8 \pm 21,3$	$695,3 \pm 87,6^*$	
	НП	$88,7 \pm 4,7$	$50,8 \pm 4,2$	$389,7 \pm 19,1$	$3322,7 \pm 116,7^*$	



Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7
L-NAME 25 мг/кг + L-норвалин 10 мг/кг	Исходные	180 ± 4,7	144,6±10,2	371,4 ± 11		2,1±0,2**
	АХ	106,7 ± 4,9	56,1 ± 1,8**	344,2 ± 15	1360,6±126**	
	НП	129,3 ± 5,1**	64,6 ± 2,5**	358,3 ± 12	2827,2±99,1**	
L-NAME 25 мг/кг + лозартан калия 8 мг + амлодипин 0,8 мг/кг	Исходные	133,7 ± 3,9**	106,5± 3,6**	348,0 ± 11,0		1,9±0,1**
	АХ	94,4 ± 1,8**	62,5 ± 2,0**	368,3 ± 11,9	798,6±101,0	
	НП	85,5 ±4,9	52,5 ± 3,0	385,3 ± 14,3	1416,0±60,6**	
L-NAME 25 мг/кг+ L-норвалин 10 мг/кг + лозартан калия 8 мг + амлодипин 0,8 мг/кг)	Исходные	132,5±1,6**	104,5±2,5**	376,4±8,9		1,5±0,1**
	АХ	81,9±3,3**	48,8±3,3**	381,5±9,3	1250,1±81,7**	
	НП	86,4±3,2	49,5±2,1	366,9±12,1	1838,9±197,0**	

Примечание: * - $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME.

Обсуждение результатов. В современной фармакологии и клинической практике отсутствуют препараты целенаправленного эндотелиопротективного действия, а в большинстве случаев используются эндотелиотропные эффекты препаратов основных групп: ингибиторов АПФ, антагонистов кальция, антагонистов рецепторов ангиотензина, бета-адреноблокаторов, статинов и др.

Большое внимание в последнее время уделяется фиксированной комбинации блокатора рецептора ангиотензина и дигидропиридинового антагониста кальция, эффективность и безопасность которой доказана в исследованиях у пациентов с АГ разной степени. Однако работы по изучению влияния данного сочетания препаратов на ЭД немногочисленны.

Механизм действия БРА лозартана при эндотелиальной дисфункции косвенный, связанный со стимуляцией АТ₂-подтипа рецепторов ангиотензина II и реализующийся вследствие брадикининзависимого пути эндотелиопротекции, в то время как одним из главных факторов развития данного патофизиологического состояния, особенно при эссенциальной АГ, является повреждение в системе L-аргинин-NO, приводящее к нарушениям продукции NO [1].

Антагонисты кальция дигидропиридинового ряда, в частности амлодипин, в эксперименте и в клинических исследованиях улучшают эндотелийзависимую вазодилатацию за счет увеличения уровня NO. Основными механизмами повышения уровня NO являются антиоксидантное действие АК, увеличение активности супероксиддисмутазы, повышение биодоступности NO [8].

С целью активации коррекции эндотелиальной дисфункции нами предложено добавление к препаратам с доказанной эндотелиотропной активностью ингибитора аргиназы L-норвалина, механизм действия которого связан с угнетением активности аргиназы и, следовательно, снижением гидролиза донатора NO – L-аргинина [4].

Таким образом, сочетанное применение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана калия 8 мг/кг и амлодипина 0,8 мг/кг позволило обнаружить положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в снижении КЭД до уровня интактных животных и достижении целевых значений артериального давления. Отмеченный эффект связан со способностью препаратов разными, патогенетически обоснованными механизмами, влиять на метаболизм оксида азота.

Выводы.

1. Длительное (в течение 7 дней) внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов крыс линии Вистар нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышении значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.

2. Фиксированная комбинация (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) оказывает выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений артериального давления.



3. При сочетанном применении фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) и L-норвалина в дозе 10 мг/кг обнаружено положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в достижении целевых значений артериального давления и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до уровня интактных животных.

Литература

1. Андрущишина, Т.Б. Кардиопротективные свойства блокаторов ангиотензина II: фокус на лозартан / Т.Б. Андрущишина, Т.Е. Морозова //Справочник поликлинического врача. – 2010. – № 4. – С.36-39.
2. Затейщикова, А.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение / А.А. Затейщикова, Д.А. Затейщиков // Кардиология. – 1998. – Т. 38, № 9. – С. 68-80.
3. Коркушко, О.В. Эндотелиальная дисфункция / О.В. Коркушко, В.Ю. Лишневецкая // Кровообращение гемостаз. – 2003. – № 2. – С. 4-15.
4. Bonthu, S. Atherosclerosis, Vascular Remodeling, and Impairment of Endothelium-Dependent Relaxation in Genetically Altered Hyperlipidemic Mice / S. Bonthu, D. Heistad, D. Chappel et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 1997. – Vol. 17. – P. 2333-2340.
5. Chicoine, L.G. Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells / L.G. Chicoine, M.L. Paffet, T.L. Young, L.D. Nelin // Am J Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol. – 2004. – Vol.287. – P.60-68.
6. Cosentino, F. Tetrahydrobiopterin alters superoxide and nitric oxide release in prehypertensive rats / F. Cosentino, S. Patton, L.V. d'Uscio et al. // J. Clin. Invest. – 1998. – Vol. 191. – P. 1530-1537.
7. Nakayama, N. Effects of the new long-acting dihydropyridine calcium antagonist pranidipine on the endothelium-dependent relaxation in isolated rat aorta in vitro / N. Nakayama, K. Ikezono, M. Ohura et al. // Arzneimittelforschung. – 1993. – Vol. 43. – P. 1266-1270.
10. Galle, J. Angiotensin II and oxidized LDL: an unholy alliance creating oxidative stress / J. Galle, K. Heermeier // Nephrol. Dial. Transplant. – 1999. – Vol. 14. – P. 2585-2589.
8. Harrison, D.G. Endothelial function and oxidant stress / D.G. Harrison // Clin. Cardiol. – 1997. – Vol. 20. – P. 11-17.
9. Luscher, T.F. Endotheliale dysfunction und stickstoffmonoxid (NO; Nitric Oxide) / T.F. Luscher, M.R. Tschudi, R.R. Wenzel, G. Noll // Internist. – 1997. – Vol. 38. – P. 14-16
10. Santhanam, L. Arginase and vascular aging / L. Santhanam, D.W. Christianson, D. Nyhan, D. E. Berkowitz // J Appl. Physiology. – 2008. – Vol.105. – P.1632-1642.

ENDOTHELIOPROTECTIVE EFFECTS OF ARGINASE INHIBITOR L-NORVALINE AND FIXED COMBINATION OF LOSARTAN AND AMLODIPINE

**E.G. TEREKHOVA¹, M.V. POKROVSKIY²
T.G. POKROVSKAYA², A.V. BABKO¹
M.V. KOROKIN², O.S. GUDYREV²
N.V. YUDINA¹**

¹*Kursk State Medical University*

²*Belgorod National Research University*

e-mail: alena171211@rambler.ru

As a result of research it has been shown, that fixed combination of losartan 8 mg/kg and amlodipine 0,8 mg/kg render expressed endothelioprotective action on model of L-NAME-induced deficiency NO that was expressed in prevalence endothelium dependent relaxations of vessels and factor decrease of endothelial dysfunction. Combined application of the fixed combination of losartan 8 mg/kg and amlodipine 0,8 mg/kg with L-norvaline has allowed to find out positive pharmacological interaction expressed in decrease CED to level intact of animals and achievement of target values of arterial pressure.

Key words: endothelial dysfunction, L-norvaline, amlodipine, losartan.