

УДК 618.3-06-08:577.112.385.2

## ПЕРСПЕКТИВЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОГО ГЕСТОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ПОМОЩЬЮ ИНГИБИТОРА АРГИНАЗ L-НОРВАЛИНА И ИНГИБИТОРА ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 5 ТАДАЛАФИЛА

Полянская О.С.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,  
Белгород, e-mail: aquarel87@mail.ru

Введение ADMA-подобного агента – L-NAME беременным крысам вызывает блокаду эндотелиальной NO-синтазы и приводит к патофизиологическим изменениям, подобным гестозу у женщин. У животных наблюдалось повышение артериального давления, протеинурия, нарушение микроциркуляции в плаценте, нарушение регуляции сосудистого тонуса и NO-продуцирующей функции эндотелия. Введение фармакологических агентов, обладающих эндотелиопротективными свойствами, – ингибитора аргиназ L-норвалина и ингибитора фосфодиэстеразы 5 тадалафила – приводит к явной коррекции патологических изменений. Это объясняется воздействием на фармакологический путь L-аргинин – цГМФ, что приводит в конечном итоге к облегчению вазодилатирующих механизмов и нормализации функции эндотелия. Результаты исследования служат предпосылкой для проведения дальнейших исследований с целью включения ингибитора аргиназ L-норвалина и ингибитора фосфодиэстеразы тадалафила в клиническую практику и расширения показаний для их применения.

**Ключевые слова:** крысы, преэклампсия, L-NAME, лечение

## PROSPECTS OF PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF L-NAME-INDUCED PREECLAMPSIA IN EXPERIMENT BY MEANS OF INHIBITOR OF ARGINASE L-NORVALINE AND OF INHIBITOR OF PHOSPHODIESTERASE 5 TADALAFIL

Polyanskaya O.S.

National Research University Belgorod State University, Belgorod, e-mail: aquarel87@mail.ru

L-NAME administration in pregnant rats leads to blockade of endothelial NO-sintasa and to pathological changes similar to preeclampsy in women. Blood pressure elevation, gestational proteinuria, placenta microcirculation impairing, vascular tone and NO-produse function dysregulation were observed. Pharmacological agent increasing NO activity administration inhibitor of arginase L-norvaline and of inhibitor of phosphodiesterase 5 tadalafil. It speaks impact on a pharmacological way of L-arginin – TsGMF that the endoteliya leads finally to simplification of vazodilatriryushchy mechanisms and function normalization. Recent studies are background for future investigations and clinical adoption or broaden their indications.

**Keywords:** rats, preeclampsy, L-NAME, treatment

В связи с тем, что этиология и патогенез гестоза в настоящее время остаются окончательной не выясненными, актуальной проблемой до сих пор является поиск эффективных методов лечения этого осложнения беременности.

Многочисленные факты свидетельствуют о том, что клинические проявления преэклампсии, изменения реактивности кровеносных сосудов, включая ангиоспазм и мультиорганную патологию, обусловлены развитием патологических изменений в эндотелии кровеносных сосудов [3]. Высказано предположение, что в развитии структурных и функциональных изменений эндотелия кровеносных сосудов наряду с генетическими, иммунологическими и диетическими факторами важную роль играют окислительный стресс и недостаточность оксида азота. Основным источником факторов, вызывающих дисфункцию эндотелия, является плацента. Гипоксия и окислительный стресс, развившиеся в плаценте, способствуют ее физиологической

дисфункции, активации циклооксигеназы (COX-2), усиленному образованию простагландинов, тромбоксанов и эндотелина-1 [3]. Эти соединения способны вызвать дисфункцию эндотелия в организме матери, связанную с усиленным образованием вазоконстрикторов (тромбоксана, эндотелина и т.д.), снижением синтеза релаксантов (NO, простациклина, и т.д.) и их стимуляторов – эстрогенов, повреждением эндотелия кровеносных сосудов, развитием ангиоспазма и нарушением фетоплацентарного кровообращения. Считается, что дефицит NO обусловлен преобразованием его в пероксинитрит или же снижением активности эндотелиальной NO-синтазы (e-NOS). Пусковым моментом патогенеза преэклампсии может служить повышенное содержание в эндотелиальных клетках эндогенного ингибитора NO-синтазы ассиметричного диметиларгинина (ADMA). В последние годы обнаружено, что концентрации ADMA в материнской плазме гораздо выше у женщин с преэклампсией [1] и что повышенные

концентрации ADMA являются одними из предикторов данной патологии.

**Целью работы** стало проведение комплексного сравнительного изучения влияния ингибитора аргиназ – L-норвалина и ингибитора фосфодиэстеразы 5-тадалафила – на течение экспериментального L-NAME индуцированного гестоза.

#### Материал и методы исследования

Опыты проводились на 40 белых крысах-самках линии Wistar массой 250–300 г. Беременные самки были разделены на группы ( $n = 10$ ): I – интактные; II – с введением ADMA-подобного агента – неселективного блокатора NO-синтазы N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) с 14 по 20 сутки беременности в дозе 25 мг/кг/сут внутрибрюшинно; III – с введением на фоне L-NAME ингибитора аргиназ L-норвалина (10 мг/кг/сут внутривенно однократно); IV – с введением на фоне L-NAME ингибитора фосфодиэстеразы 5 тадалафила (0,9 мг/кг/сут внутривенно однократно). На 21 день беременности под наркозом проводились пробы: эндотелийзависимая и эндотелийнезависимая вазодилатация с последующим расчетом коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) [2]. Исследование микроциркуляции в плаценте проводили с помощью оборудования компании Biopac systems: полиграф MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и датчиком TSD144. Регистрация результатов ЛДФ производилась программой AcqKnowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ). Суточную мочу собирали при помещении животных в метаболические клетки с последующим определением протеинурии. NO-продуцирующая функция эндотелия оценивалась на основании данных содержания стабильных метаболитов NO – нитрит-ионов NOx в сыворотке крови и экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота (e-NOS).

#### Результаты исследования и их обсуждение

Определение гемодинамических и других исследуемых нами показателей у небеременных и беременных самок крыс не позволило выявить между ними каких либо различий. Введение ADMA-подобного агента – L-NAME небеременным самкам не приводило к статистически значимым изменениям. Данный момент существенно отличается от проводимых нами ранее экспериментов на самцах. При введении самцам ингибитора NO-синтазы L-NAME развивалась патология, которая характеризовалась повышением артериального давления, нарушением регуляции сосудистого тонуса и другими морфофункциональными нарушениями [1]. При введении L-NAME беременным самкам мы наблюдали развитие патологии, по своим проявлениям соответствующей критериям клинической картины гестоза у женщин.

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 расслабление (ацетилхолин) и эндотелийнезависимое (нитропруссид натрия) и увеличению КЭД с  $1,28 \pm 0,23$  у интактных беременных животных до  $3,06 \pm 0,32$  ( $p < 0,05$ ). Кроме этого, наблюдался значительный подъем систолического и диастолического артериального давления с  $125 \pm 6,3$  и  $82,0 \pm 5,8$  до  $183,1 \pm 9,4$  и  $136,7 \pm 7,4$  мм рт. ст. соответственно. Введение L-NAME приводило также к протеинурии с  $0,90 \pm 0,10$  г/л до  $1,88 \pm 0,19$  г/л ( $p < 0,05$ ) и к значительному снижению показателя микроциркуляции в плаценте с  $425,90 \pm 39,55$  ПЕ до  $237,50 \pm 38,18$  ПЕ ( $p < 0,05$ ), а также к снижению содержания стабильных метаболитов NOx в сыворотке крови с  $2,35 \pm 0,21$  до  $1,33 \pm 0,09$  мкмоль/дл и к резкому снижению экспрессии e-NOS с  $112,2 \pm 6,99$  до  $61,4 \pm 4,46\%$  ( $p < 0,05$ ).

Длительное, в течение 7 суток, ежедневное внутривенное введение L-норвалина (10 мг/кг) на фоне L-NAME-индуцированного гестоза приводило к статистически достоверному снижению КЭД до  $1,50 \pm 0,1$  и к повышению уровня микроциркуляции в плаценте до  $455,7 \pm 41,5$  ПЕ, нормализации протеинурии до  $0,87 \pm 0,11$  г/л, предотвращению снижения содержания стабильных метаболитов NO ( $2,10 \pm 0,14$  мкмоль/дл) и уровня экспрессии e-NOS ( $117,7 \pm 5,65\%$ ). Однако значения артериального давления не достигали целевого уровня.

Длительное, в течение 7 суток, ежедневное внутривенное введение тадалафила (0,9 мг/кг/сут) на фоне экспериментального L-NAME-индуцированного гестоза приводило к снижению артериального давления ( $149,7 \pm 2,2$  и  $97,6 \pm 3,2$  мм рт. ст.), восстановлению КЭД до  $1,85 \pm 0,08$  ( $p < 0,05$ ), существенному улучшению микроциркуляции в плаценте до  $398,7 \pm 24,84$  ПЕ, что было достоверно выше, чем у беременных самок с гестозом ( $p < 0,05$ ), и практически достигало значений микроциркуляции у интактных беременных крыс. Однако тадалафил не вызывал ни увеличения содержания стабильных метаболитов NO в плазме крови ( $1,36 \pm 0,1$  мкмоль/дл), ни экспрессии e-NOS ( $65,5 \pm 3,36\%$ ). Значения протеинурии ( $1,01 \pm 0,06$  г/л) соответствовали показателям серии интактных животных ( $p < 0,05$ ).

### Заключение

Таким образом, вышеизложенное свидетельствует о том, что длительное, в течение 7 суток, внутривенное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у беременных самок крыс комплекс функциональных, биохимических и морфологических изменений, связанных с развитием дефицита NO вследствие блокады эндотелиальной NO-синтазы. Описанный симптомокомплекс соответствует патофизиологическим нарушениям, возникающим при развитии гестоза у беременных женщин.

Введение животным фармакологического агента, увеличивающего количество субстрата для синтеза NO, ингибитора аргиназы L-норвалина приводило к выраженной коррекции патологических изменений при экспериментальном гестозе. Наблюдалось восстановление взаимоотношения эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазорелаксации, улучшение микроциркуляции в плаценте, восстановление NO-синтезирующей функции эндотелия, уменьшение протеинурии. Механизм действия L-норвалина объясняется его структурным сходством с орнитинном, являющимся одним из продуктов метаболизма цикла мочевины. L-норвалин, ингибируя орнитинтранскарбамилазу, приводит к избыточному накоплению орнитина, который, в свою очередь, ингибирует аргиназу [4]. Вследствие того, что NOS и аргиназа конкурируют за общий субстрат, это приводит к увеличению возможности использования L-аргинина для синтеза NO. Кроме этого, L-норвалин ингибирует аргининосукцинатсинтазу [5], что приводит к усилению синтеза L-аргинина из цитрулина. В конечном итоге механизм действия сводится к восстановлению NO-синтезирующей функции и уменьшению дисфункции эндотелия.

Использование ингибитора фосфодиэстеразы 5 типа также приводило к явной коррекции моделируемого патологического состояния. Это объясняется тем, что угнетение фосфодиэстеразы 5 способствует активации растворимой гуанилатциклазы и накоплению вторичного посредника – циклического 3,5 гуанозинмонофосфата (цГМФ), с чем связано сосудорасширяющее действие NO. Накапливающийся цГМФ активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу, а также Ca<sup>2+</sup> АТФазу, что приводит в конечном итоге к облегчению вазодилатирующих механизмов и нормализации функции эндотелия [6].

### Список литературы

1. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 2. – С. 29–31.
2. Сравнительное изучение потенциальных эндотелиопротекторов и препарата «Импаз» при моделировании дефицита оксида азота / М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – № 8, Том 148. – С. 154–158.
3. Hunt B.J., Jurd K.M. Endothelial cell activation // *British Medical Journal*. – 1998. – vol. 316, no. 7141. – P. 1328–1329.
4. The vascular effects of different arginase inhibitors in rat i/ated aorta and mesenteric arteries / N.N. Huynh, E.E. Harris, J.F. P. Chin-Dusting, and K.L. Andrews // *British Journal of Pharmacology*. – 2009. – vol. 156, no. 1. – P. 84–93.
5. Inhibition of S6K1 accounts partially for the anti-inflammatory effects of the arginase inhibitor L-norvaline / X.F. Ming, A.G. Rajapakse, J.M. Carvas, J. Ruffieux, and Z. Yang // *BMC Cardiovascular Disorders*. – 2009. – vol. 9. – article 12.
6. Weeks J.L., Zoraghi R., Beasley A., et al. High biochemical selectivity of tadalafil, sildenafil and vardenafil for human phosphodiesterase 5A1 (PDE5) over PDE11A4 suggests the absence of PDE11A4 cross-reaction in patients // *Int J Impot Res*. – 2004.

### References

1. B.J. Hunt and K.M. Jurd Endothelial cell activation, *British Medical Journal*, vol. 316, no. 7141, pp. 1328–1329, 1998.
2. N.N. Huynh, E.E. Harris, J.F.P. Chin-Dusting, and K.L. Andrews, The vascular effects of different arginase inhibitors in rat i/ated aorta and mesenteric arteries, *British Journal of Pharmacology*, vol. 156, no. 1, pp. 84–93, 2009.
3. X.F. Ming, A.G. Rajapakse, J.M. Carvas, J. Ruffieux, and Z. Yang Inhibition of S6K1 accounts partially for the anti-inflammatory effects of the arginase inhibitor L-norvaline *BMC Cardiovascular Disorders*, vol. 9, article 12, 2009.
4. M.V. Pokrovskii, T.G. Pokrovskaya, V.I. Kochkarov, and E.B. Artyushkova Endothelioprotective properties of L-arginine on a nitric oxide deficiency model *The Experimental and Clinical Pharmacology*, vol. 71, no. 2, pp. 29–31, 2008.
5. M.V. Pokrovskii, V.I. Kochkarov, T.G. Pokrovskaya et al. Comparative study of potential endothelioprotectors and impaza in modeled nitric oxide deficiency *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 148, no. 3, pp. 514–517, 2009.
6. Weeks J.L., Zoraghi R., Beasley A., et al. High biochemical selectivity of tadalafil, sildenafil and vardenafil for human phosphodiesterase 5A1 (PDE5) over PDE11A4 suggests the absence of PDE11A4 cross-reaction in patients. *Int J Impot Res* 2004.

### Рецензенты:

Иванова О.Ю., д.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития РФ, г. Курск;

Рыбников В.Н., д.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития РФ, г. Курск.

Работа поступила в редакцию 21.09.2012.