

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

ЭНАЛАПРИЛАТ КАК НОВОЕ СРЕДСТВО ПРОФИЛАКТИКИ РАЗВИТИЯ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Л.А. Катаргина, Н.Б. Чеснокова, Т.А. Павленко, О.В. Безнос, Н.А. Осипова, А.Ю. Панова*

Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца,
105062, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19; *эл. почта: natashamma@mail.ru

На крысиной модели экспериментальной ретинопатии недоношенных (ЭРН) изучена безопасность применения эналаприлата и его влияние на уровень ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и ангиотензина-II (АТ-II) в стекловидном теле и сетчатке. Исследование выполнено на 136 новорожденных крысах породы Wistar, разделённых на 2 группы: группа А — опытная (животные с ЭРН, n=64) и группа Б — контрольная (n=72). Каждая из указанных групп была разделена на 2 подгруппы: А0 и Б0 (n=32 и n=36 соответственно) — животные, не получавшие инъекции эналаприлата, и А1 и Б1 (n=32 и n=36 соответственно) — животные, которым со вторых по седьмые или четырнадцатые сутки жизни (в зависимости от сроков выведения из эксперимента) ежедневно интраперитонеально вводили эналаприлат (0,6 мг/кг веса). Животных выводили из эксперимента на седьмые и четырнадцатые сутки. В образцах стекловидного тела и сетчатки определяли содержание АПФ и АТ-II методом иммуноферментного анализа. На седьмые сутки в подгруппах А1 и Б1 уровни АПФ и АТ-II в стекловидном теле не отличались, а на четырнадцатые сутки были ниже, чем в подгруппах А0 и Б0 соответственно. Динамика показателей в сетчатке несколько отличалась от динамики показателей в стекловидном теле. На седьмые сутки уровень АПФ в сетчатке животных подгруппы Б1 существенно не отличался от подгруппы Б0, а в подгруппе А1 был повышен по сравнению с подгруппой А0. На четырнадцатые сутки было отмечено его значимое снижение в подгруппах А1 и Б1 по сравнению с подгруппами А0 и Б0. В то же время уровень АТ-II в сетчатке крысят подгруппы Б1 и на седьмые, и на четырнадцатые сутки был ниже, чем в подгруппе Б0. В подгруппе А1 на седьмые сутки концентрация АТ-II, также как и концентрация АПФ, была повышена по сравнению с подгруппой А0. На четырнадцатые сутки в подгруппе А1 данный показатель был достоверно ниже по сравнению с подгруппой А0, но достоверно выше, чем в подгруппе Б1. Важно отметить, что на фоне интраперитонеальных инъекций эналаприлата была отмечена высокая гибель животных обеих групп. Применение эналаприлата, начиная с доклинического срока развития ЭРН, приводит к снижению активности ренин-ангиотензиновой системы (РАС) у животных с ЭРН на сроке дебюта ретинопатии в используемой экспериментальной модели. Это открывает перспективы для рассмотрения его в качестве средства профилактики развития данной патологии, однако выявленная высокая токсичность препарата требует продолжения работы и проведения коррекции сроков его введения и дозировки для достижения баланса эффективности и безопасности применения с целью профилактики развития ретинопатии у детей.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных; экспериментальная модель; профилактика; эналаприлат

DOI: 10.18097/PBMC20236902097

ВВЕДЕНИЕ

Ретинопатия недоношенных (РН) на протяжении нескольких десятилетий сохраняет лидирующие позиции среди причин снижения зрительных функций у детей во всем мире [1, 2]. В России в структуре инвалидности по зрению она занимает 3-4 место (на 10 тысяч детского населения) [3]. С момента первого описания данной патологии в 40-х гг. XX века по мере развития офтальмологической и неонатальной служб клинический “портрет” РН претерпел изменения — от ретролентальной фиброплазии до РН I зоны. К настоящему времени достигнут значительный успех в мониторинге и лечении “классических форм” РН. Основными задачами, стоящими перед исследователями и клиницистами, являются изучение патогенеза, оптимизация скрининга и повышение частоты благоприятных анатомо-функциональных исходов тяжёлых форм РН, развивающихся у глубоко недоношенных детей с экстремально низкой массой тела при рождении [4-7]. Поскольку данные формы РН часто резистентны

к традиционной лазеркоагуляции сетчатки, а эффективность и безопасность анти-VEGF терапии ещё нуждаются в дальнейшем активном изучении, одним из важных вопросов является поиск путей профилактики развития и прогрессирования РН, в основе которого лежит изучение роли различных молекулярных агентов в индукции аномальной вазопролиферации.

Патогенетическое значение большого спектра про- и антиангиогенных факторов в развитии различной вазопролиферативной офтальмопатологии является предметом исследовательских работ учёных всего мира. Большинство из этих факторов представляет собой полифункциональные молекулы, преимущественные свойства которых в конкретный момент определяются тканью, в которой они находятся, рецепторами, с которыми они вступают во взаимосвязь, и взаимодействием с другими факторами. Данное взаимодействие носит сложный многоуровневый характер и способно менять вектор активности агентов на противоположный.

Большой интерес среди специалистов, занимающихся проблемой патологической вазопролиферации, в последние годы вызывают ангиогенные свойства ренин-ангиотензиновой системы (РАС), основной функцией которой в организме является регуляция артериального давления и перфузии тканей [8]. В ряде работ было показано, что её ключевой вазоактивный пептид ангиотензин-II (АТ-II) обладает также выраженной вазопролиферативной активностью, реализующейся путём разнообразных механизмов, в том числе опосредованного фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) [9, 10]. В серии наших экспериментальных и клинических исследований было выявлено повышенное содержание АТ-II на местном и системном уровнях именно на этапе индукции патологического процесса [11]. Полученные данные легли в основу предположения о возможной протекторной роли медикаментозных препаратов, снижающих концентрацию АТ-II, в частности ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), и о перспективах их применения для предотвращения развития патологической вазопролиферации при РН.

Одним из широко применяемых в клинической практике ингибиторов АПФ является эналаприлат, представляющий собой производную двух аминокислот — L-аланина и L-пролина. Его влияние на РАС проявляется в увеличении активности ренина плазмы крови (вследствие устранения отрицательной обратной связи в ответ на высвобождение ренина) и уменьшении секреции альдостерона. Поскольку АПФ идентичен ферменту кининаза II, эналаприлат также может блокировать разрушение брадикинина — пептида, обладающего выраженным вазодилатирующим действием, что лежит в основе активного применения эналаприлата для лечения первичной артериальной гипертензии любой степени тяжести и реноваскулярной гипертензии, а также для лечения или предупреждения развития сердечной недостаточности [12–14].

На данном этапе исследований целью нашей работы было изучение безопасности применения ингибитора АПФ эналаприлата на крысиной модели экспериментальной РН (ЭРН), а также его влияния на уровень АФП и АТ-II в стекловидном теле и сетчатке крысят с ЭРН.

МЕТОДИКА

Исследование было выполнено на 136 новорожденных крысятах породы Wistar. Животные были разделены на 2 группы: группа А — опытная (животные с ЭРН, n=64) и группа Б — контрольная (n=72). Модель ЭРН была разработана нами в процессе предыдущих исследований [15]: с целью воспроизведения патологии новорожденных крысят на 14 суток помещали в инкубатор вместе с родившей их самкой. Каждые 12 ч концентрацию кислорода в инкубаторе изменяли от 60% до 15% путём включения и выключения кислородного

концентратора. Крысята контрольной группы с момента рождения находились в условиях с нормальным содержанием кислорода (21%).

Животные опытной и контрольной групп были разделены на 2 подгруппы: (i) А0 и Б0 (n=32 и n=36 соответственно) — животные, не получавшие инъекции, (ii) А1 и Б1 (n=32 и n=36 соответственно) — животные, которым со вторых по седьмые или четырнадцатые сутки жизни (в зависимости от срока выведения из эксперимента) ежедневно интраперитонеально вводили эналаприлат (препарат Энап-Р, “KRKA”, Словения) из расчёта 0,6 мг/кг веса.

На протяжении эксперимента в помещении с животными всех подгрупп поддерживали постоянный температурный (26°C) и световой (12 ч день, 12 ч ночь) режимы.

Животных всех подгрупп выводили из эксперимента на седьмые (половина от общего числа животных каждой подгруппы) и четырнадцатые сутки (вторая половина животных) путём цервикальной дислокации. Всем животным в указанные сроки проводили бинокулярную энуклеацию. Глазное яблоко вскрывали по лимбу, удаляли роговицу и хрусталик вместе с остатками персистирующей сосудистой сумки и гиалоидной артерии и проводили забор образцов стекловидного тела с помощью полосок фильтровальной бумаги, которые взвешивали до и после взятия образцов. Затем глазной бокал помещали в холодный физиологический раствор и выделяли сетчатку. Компоненты стекловидного тела элюировали 0,05 М фосфатным буфером pH 7,4 в соотношении 1:20 (по массе) и центрифугировали 10 мин при 3000 g. Надосадочную жидкость отбирали, замораживали и хранили при -70°C до исследования.

Каждую сетчатку помещали в 200 мкл холодного лизирующего буфера (Lysis buffer-3, “Cloud-Clone Corp.”, США), гомогенизировали с помощью ультразвукового гомогенизатора UP50H (“Hielsher”, Германия) в течение 15 с (амплитуда 122 мкм, 125 В/см²), центрифугировали 10 мин при 3000 g, надосадочную жидкость отбирали, замораживали и хранили при -70°C до исследования.

В образцах стекловидного тела и сетчатки глаз определяли содержание АПФ и АТ-II методом иммуноферментного анализа с помощью наборов ELISA kit for Angiotensin I Converting Enzyme и ELISA kit for Angiotensin-II (“Cloud-Clone Corp.”). Концентрацию общего белка определяли по методу Лоури [16]. Оптическую плотность образцов определяли с помощью многофункционального фотометра для микропланшет Synergy MX (“BioTek”, США).

Выбор указанных сроков проведения биохимических исследований был обусловлен первичной нацеленностью данной части работы на профилактику развития патологического процесса, которую можно осуществить на доклиническом этапе развития заболевания. Согласно проведённым ранее исследованиям, на седьмые сутки эксперимента как в опытной, так и в контрольной группах животных

определяются периферические аваскулярные зоны сетчатки; на четырнадцатые сутки у животных контрольной группы завершается процесс нормальной ретиальной васкуляризации, а у опытных животных отмечается начальная стадия патологического неоангиогенеза [15].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистических пакетов Microsoft Excel и Statistica. Достоверность различий между группами с уровнем значимости не менее 95% оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При введении эналаприлата отмечена высокая гибель животных обеих групп. До четырнадцатых суток эксперимента доживало 25-50% крысят из помётов опытной группы и около 75% крысят из помётов группы контроля. Наиболее частым периодом наступления летального исхода были 4-5 сутки жизни. В подгруппах А0 и Б0 все животные были живы в течение всего эксперимента.

Уровень АПФ в стекловидном теле

На седьмые сутки эксперимента уровень АПФ в стекловидном теле в подгруппе А0 имел тенденцию к повышению по сравнению с животными

подгруппы Б0. На четырнадцатые сутки увеличение содержания АПФ в стекловидном теле в подгруппе А0 достигло уровня статистической значимости ($p=0,0005$) (рис. 1).

Полученные данные свидетельствуют об участии РАС в патогенезе ЭРН, в частности в индукции патологического ангиогенеза, что подтверждает данные, полученные в наших ранних исследованиях [11].

На седьмые сутки у животных подгрупп А1 и Б1 уровень АПФ в стекловидном теле не отличался от такового у подгрупп А0 и Б0 соответственно. На четырнадцатые сутки данный показатель в обеих подгруппах, получавших инъекции эналаприлата (А1 и Б1), был достоверно ниже, чем у животных подгрупп А0 и Б0 соответственно ($p=0,034$ для подгруппы А0 и $p=0,0014$ для подгруппы Б0) (рис. 1).

Уровень АТ-II в стекловидном теле

Анализ уровня АТ-II в стекловидном теле подтвердил ранее полученные нами данные о его потенциальной роли в индукции патологического ангиогенеза при РН [11]. У животных подгруппы А0 на седьмые сутки было отмечено его повышенное содержание по сравнению с подгруппой Б0 ($p\leq 0,05$). Однако, в отличие от АПФ, к четырнадцатым суткам эксперимента эта разница исчезла за счёт роста данного показателя в подгруппе Б0 (рис. 2).

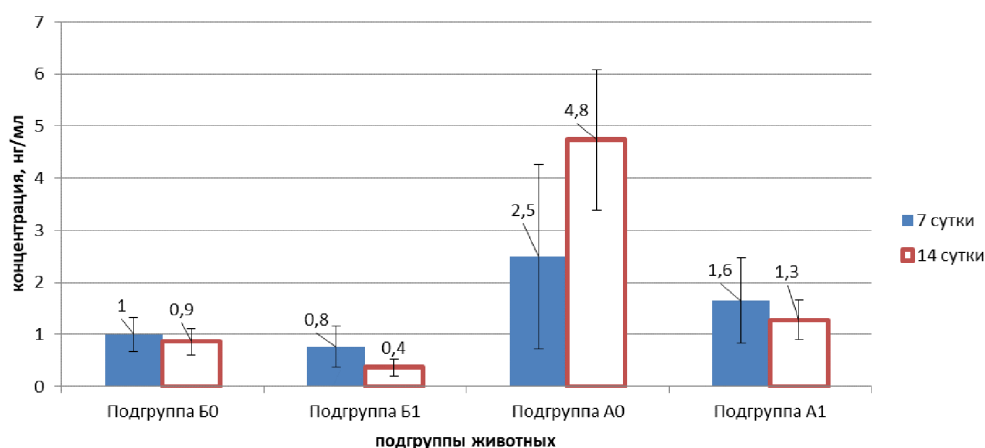


Рисунок 1. Концентрация АПФ в стекловидном теле крысят (нг/мл).

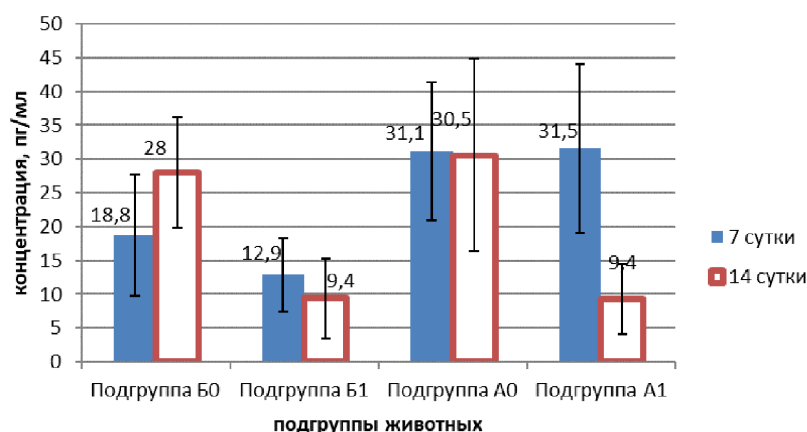


Рисунок 2. Концентрация АТ-II в стекловидном теле крысят (пг/мл).

Вероятно, в подгруппе Б0 по мере созревания отмечается ожидаемый расход АПФ для физиологической выработки АТ-II, что и объясняет полученную динамику показателей. В подгруппе А0 к моменту начала развития патологической васкуляризации происходит срыв регуляторных механизмов и ключевая реакция РАС (синтез АТ-II с помощью АПФ) начинает функционировать на фоне пиковых концентраций её участников. В связи с полученными данными перспективным представляется изучение содержания других компонентов РАС для оценки уровня дисбаланса всех её участников.

На седьмые сутки эксперимента уровень АТ-II в стекловидном теле в подгруппах А1 и Б1 практически не отличался от данного показателя в подгруппах А0 и Б0 соответственно, в то время как на четырнадцатые сутки эксперимента, также как и в отношении АПФ, данный показатель был снижен в подгруппах А1 и Б1 по сравнению с подгруппами А0 и Б0, соответственно ($p=0,011$ для подгрупп Б0 и Б1, $p=0,0054$ для подгрупп А0 и А1) (рис. 2).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что системное применение ингибитора АПФ приводит к блокаде роста уровня АПФ и достоверному снижению АТ-II в стекловидном теле животных с ЭРН к критическому сроку развития ретинопатии — сроку дебюта патологической неоваскуляризации в эксперименте.

Это может свидетельствовать о наличии эффекта “накопления” активности препарата и делает актуальным исследование его влияния на более поздних сроках.

Уровень АПФ в сетчатке

На седьмые сутки эксперимента уровень АПФ в сетчатке крысят подгрупп А0 и Б0 существенно не отличался. В динамике к четырнадцатым суткам в подгруппе Б0 была отмечена тенденция к его увеличению, в то время как в подгруппе А0 — тенденция к снижению, что делало разницу между группами к этому сроку достоверной ($p=0,0016$) (рис. 3).

На седьмые сутки уровень АПФ в сетчатке животных подгруппы Б1 существенно не отличался от подгруппы Б0, а в подгруппе А1 имел тенденцию к повышению по сравнению с подгруппой А0. На четырнадцатые сутки было отмечено его значимое снижение у животных подгрупп А1 и Б1 по сравнению с животными подгрупп А0 и Б0 соответственно ($p=0,0014$ для подгрупп Б0 и Б1, $p=0,031$ для подгрупп А0 и А1) (рис. 3).

Уровень АТ-II в сетчатке

Уровень АТ-II в сетчатке животных подгруппы А0 достоверно превышал данный показатель у животных подгруппы Б0 и на седьмые ($p=0,008$), и на четырнадцатые сутки ($p=0,004$), что подтверждает результаты нашего предыдущего исследования (рис. 4).

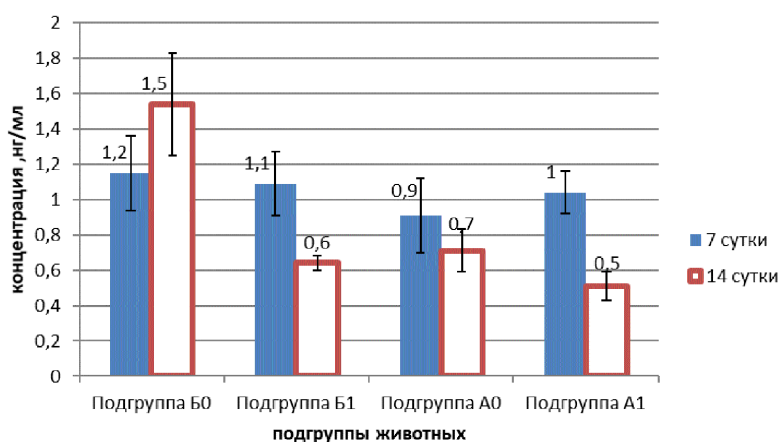


Рисунок 3. Концентрация АПФ в сетчатке крысят (нг/мг белка).

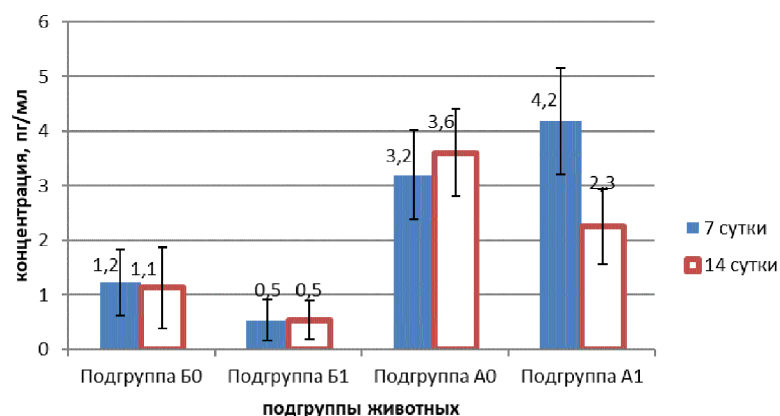


Рисунок 4. Концентрация АТ-II в сетчатке крысят (пг/мг белка).

В сетчатке животных подгруппы Б1 и на седьмые, и на четырнадцатые сутки имела место тенденция к снижению уровня АТ-II по сравнению с подгруппой Б0. У животных подгруппы А1 на седьмые сутки концентрация АТ-II, также как и концентрация АПФ, была повышена по сравнению с животными подгруппы А0 ($p=0,008$). На четырнадцатые сутки у животных подгруппы А1 данный показатель был достоверно ниже, чем у животных подгруппы А0 ($p=0,046$) и достоверно выше, чем у животных подгруппы Б1 ($p=0,004$) (рис. 4).

Дискорреляцию уровня и динамики показателей, полученных в стекловидном теле и сетчатке животных можно объяснить тем, что существенным источником различных факторов РАС в стекловидном теле является системный кровоток: они попадают в витреальную полость из функционирующей на данном сроке развития животных гиалоидной артерии. В сетчатке функционирует локальная РАС и синтез её компонентов происходит независимо.

Анализ уровня исследуемых показателей в сетчатке животных, получавших инъекции эналаприлата, требует очень осторожного подхода, поскольку активность препарата может иметь ограничения вследствие наличия гематоретинального барьера. Хотя при развитии ЭРН гематоретинальный барьер демонстрирует свою неполноценность и несостоятельность [17], однако степень его проницаемости для каждой конкретной молекулы на каждом конкретном сроке развития безусловно требует дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вовлечённость компонентов РАС в патогенез различных заболеваний, напрямую не связанная с регуляцией сосудистого тонуса и обусловленная полифункциональностью её компонентов, в частности, пептида АТ-II, сделала актуальным изучение влияния препаратов, влияющих на активность РАС, в лечении и профилактике данных патологических состояний. В контексте РН было показано, что ингибиторы АПФ и блокаторы рецепторов АТ1 значительно снижают экспрессию VEGF-A при развитии заболевания [9, 18]. На экспериментальной модели РН были получены данные о том, что на фоне интравитреального введения антагониста рецептора АТ1 валсартана в сетчатке отмечается значительно большая выживаемость астроцитов, улучшенная реваскуляризация сетчатки и подавление преретинальной неоваскуляризации. Это позволило заключить, что при экспериментальной РН блокаторы рецептора АТ1 оказывают защитное действие в отношении глиальных клеток и кровеносных сосудов [19].

В нашем исследовании применение эналаприлата, начиная с доклинического срока развития ЭРН, приводило к снижению активности РАС у крыс с ЭРН на критическом сроке развития ретинопатии (сроке дебюта заболевания в используемой

экспериментальной модели), что открывает широкие перспективы для рассмотрения его в качестве средства профилактики развития данной патологии.

Однако показанная в нашей работе высокая токсичность эналаприлата свидетельствует о том, что данный препарат подавляет не только патологическую неоваскуляризацию при развитии РН, но и может оказывать негативное влияние на нормальный рост сосудов в других незрелых органах новорожденных крыс, а также, вероятно, вызывать значимые, несовместимые с жизнью гемодинамические сдвиги.

В связи с этим планируется продолжить работу и провести коррекцию сроков введения препарата и его дозировки для достижения баланса эффективности и безопасности его применения с целью профилактики развития РН у детей.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование проведено без использования источников внешнего финансирования.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование проведено в соответствии с ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики GLP”, постановлением главного государственного врача РФ №51 от 29.08.2014 “Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)”, Федеральным законом №61-ФЗ от 12.04.2010 “Об обращении лекарственных средств”. Протокол исследования утверждён локальным этическим комитетом.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Solebo A.L., Teoh L., Rahi J. (2017) Epidemiology of blindness in children. Arch. Dis. Child., **102**, 853-857. DOI: 10.1136/archdischild-2016-310532
2. Hong E.H., Shin Y.U., Cho H. (2022) Retinopathy of prematurity: A review of epidemiology and current treatment strategies. Clin. Exp. Pediatr., **65**(3), 115-126. DOI: 10.3345/cep.2021.00773
3. Михайлова Л.А., Катаргина Л.А. (2021) Ресурсы детской офтальмологической службы в Российской Федерации и эффективность их использования. Российская педиатрическая офтальмология, **16**(4), 47-54. [Mikhailova L.A., Katargina L.A. (2021) Resources of Children's Ophthalmological Service in the Russian Federation and their effectiveness. Rossijskaja Peditricheskaja Oftal'mologija, **16**(4), 47-54.] DOI: 10.17816/rpoj84931

4. Сайдашева Э.И., Горелик Ю.В., Буяновская С.В., Ковшов Ф.В. (2015) Ретинопатия недоношенных: особенности течения и результаты лечения у детей со сроком гестации менее 27 недель. Российская педиатрическая офтальмология, **10**(2), 28-32. [Saydasheva E.I., Gorelik Yu.V., Buyanovskaya S.V., Kovshov F.V. (2015) Retinopathy of prematurity: The course and results of treatment in children with gestational age less than 27 weeks. Rossijskaja Pediatricheskaja Oftal'mologija, **10**(2), 28-32.] DOI: 10.17816/rpoj37645
5. Hellgren K.M., Tornqvist K., Jakobsson P.G., Lundgren P., Carlsson B., Källén K., Serenius F., Hellström A., Holmström G. (2016) Ophthalmologic outcome of extremely preterm infants at 6.5 years of age: extremely preterm infants in Sweden study (EXPRESS). JAMA Ophthalmology, **134**, 555-562. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0391
6. Molloy C.S., Anderson P.J., Anderson V.A., Doyle L.W. (2016) The long-term outcome of extremely preterm (<28 weeks' gestational age) infants with and without severe retinopathy of prematurity. J. Neuropsychology, **10**, 276-294. DOI: 10.1111/jnp.12069
7. Glass T.J.A., Chau V., Gardiner J., Foong J., Vinall J., Zwicker J.G., Grunau R.E., Synnes A., Poskitt K.J., Miller S.P. (2017) Severe retinopathy of prematurity predicts delayed white matter maturation and poorer neurodevelopment. Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal. Ed., **102**, F532-F537. DOI: 10.1136/archdischild-2016-312533.
8. Nath M., Chandra P., Halder N., Singh B., Kumar Deorari A., Kumar A., Azad R., Velpandian T. (2016) Involvement of renin-angiotensin system in retinopathy of prematurity — a possible target for therapeutic intervention. PLoS One, **11**(12), e0168809. DOI: 10.1371/journal.pone.0168809
9. Tamarat R., Silvestre J.S., Durie M., Levy B.I. (2002) Angiotensin II angiogenic effect *in vivo* involves vascular endothelial growth factor- and inflammation-related pathways. Laboratory Investigation, **82**, 747-756. DOI: 10.1097/01.lab.0000017372.76297.eb
10. Asahara T., Chen D., Takahashi T., Fujikawa K., Kearney M., Wagner M., Yancopoulos G.D., Isner J.M. (1998) Tie2 receptor ligands, angiopoietin-1 and angiopoietin-2, modulate VEGF-induced postnatal neovascularization. Circ. Res., **83**, 233-240. DOI: 10.1161/01.res.83.3.233
11. Катаргина Л.А., Чеснокова Н.Б., Безнос О.В., Осипова Н.А., Панова А.Ю. (2020) Ангиотензин-II как пусковой фактор развития ретинопатии недоношенных. Офтальмология, **17**(4), 746-751. [Katargina L.A., Chesnokova N.B., Beznos O.V., Osipova N.A., Panova A.Yu. (2020) Angiotensin-II as a trigger factor in the development of retinopathy of prematurity. Ophthalmologija, **17**(4), 746-751.] DOI: 10.18008/1816-5095-2020-4-746-751
12. Sharpe D.N., Murphy J., Coxon R., Hannan S.F. (1984) Enalapril in patients with chronic heart failure: A placebo-controlled, randomized, double-blind study. Circulation, **70**, 271-278. DOI: 10.1161/01.cir.70.2.271
13. Abraham P.A., Opsahl J.A., Halstenson C.E., Keane W.F. (1988) Efficacy and renal effects of enalapril therapy for hypertensive patients with chronic renal insufficiency. Arch. Intern. Med., **148**, 2358-2362. DOI: 10.1001/archinte.1988.00380110024005
14. Faisal M., Cawello W., Laeer S., The LENA Consortium (2021) Clinical pharmacokinetics of enalapril and enalaprilat in pediatric patients — a systematic review. Front. Pediatr., **9**, 611322. DOI: 10.3389/fped.2021.611322
15. Катаргина Л.А., Хорошилова-Маслова И.П., Майбогин А.М., Панова И.Г., Осипова Н.А. (2017) Патоморфологические особенности развития экспериментальной ретинопатии недоношенных. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, **3**(2), 190-194. [Katargina L.A., Khoroshilova-Maslova I.P., Majbogin A.M., Panova I.G., Osipova N.A. (2017) Pathomorphological features of the development of experimental retinopathy of prematurity. Mezhdunarodnyj Zhurnal Prikladnyh i Fundamental'nyh Issledovanij, **3**(2), 190-194.] DOI: 10.21516/2072-0076-2019-12-4-64-69
16. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., **193**, 265-275. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6
17. Осипова Н.А. (2016) Клинико-экспериментальное изучение патогенеза ретинопатии недоношенных. Дисс. канд. наук, МНИИ глазных болезней имени Гельмгольца, Москва. [Osipova N.A. (2016) Kliniko-eksperimental'noe izuchenie patogeneza retinopatii nedonoshennyh. Diss. kand. nauk, Helmholtz Institute of Eye Diseases, Moscow.]
18. Sarlos S., Wilkinson-Berka J.L. (2005) The renin-angiotensin system and the developing retinal vasculature. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., **46**(3), 1069-1077. DOI: 10.1167/iovs.04-0885
19. Downie L.E., Pianta M.J., Vingrys A.J., Wilkinson-Berka J.L., Fletcher E.L. (2008) AT1 receptor inhibition prevents astrocyte degeneration and restores vascular growth in oxygen-induced retinopathy. Glia, **56**(10), 1076-1090. DOI: 10.1002/glia.20680

Поступила в редакцию: 23. 08. 2022.

После доработки: 18. 03. 2023.

Принята к печати: 29. 03. 2023.

ENALAPRILAT AS A NEW MEANS OF PREVENTING THE DEVELOPMENT OF RETINOPATHY OF PREMATURITY

L.A. Katargina, N.B. Chesnokova, T.A. Pavlenko, O.V. Beznos, N.A. Osipova, A.Yu. Panova*

Helmholtz National Medical Research Center for Eye Diseases,
14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya str., Moscow, 105062 Russia; *e-mail: natashamma@mail.ru

In a rat model of experimental retinopathy of prematurity (ROP), the safety of enalaprilat and its effect on the level of angiotensin-converting enzyme (ACE) and angiotensin-II (AT-II) in the vitreous body and retina were investigated. The study was performed on 136 newborn Wistar rat pups divided into 2 groups: group A — experimental (animals with ROP, n=64) and group B — control (n=72). Each group was further divided into 2 subgroups: A0 and B0 (n=32 and n=36, respectively) — animals that did not receive injections of enalaprilat, and A1 and B1 (n=32 and n=36, respectively) — animals treated with daily intraperitoneal (i.p.) injections of enalaprilat (0.6 mg/kg of body weight). This treatment started on day 2 and lasted either to day 7 or to day 14 in accordance with the therapeutic scheme. Animals were taken out of the experiment on day 7 and day 14. In samples of the vitreous body and retina, the content of ACE and AT-II was determined by enzyme immunoassay. On day 7 in subgroups A1 and B1 the levels of ACE and AT-II in the vitreous did not differ, while on day 14 were lower than in subgroups A0 and B0, respectively. Changes in the parameters studied in the retina were somewhat different from those found in the vitreous body. On the seventh day, the level of ACE in the retina of animals of subgroup B1 did not differ significantly from subgroup B0, and in subgroup A1 it was increased compared to subgroup A0. On day 14, its significant decrease was noted in subgroups A1 and B1 as compared with subgroups A0 and B0. At the same time, the level of AT-II in the retina of rat pups of subgroup B1 was lower than in subgroup B0, both on day 7 and day 14. On day 7, the concentration of AT-II, as well as the concentration of ACE, increased in subgroup A1 as compared to subgroup A0. On day 14, this parameter in subgroup A1 was significantly lower as compared to subgroup A0, but significantly higher than in subgroup B1. It should be noted that i.p. injections of enalaprilat, increased a death rate of animals of both groups. The use of enalaprilat, starting from the preclinical period of the ROP development, led to a decrease in the activity of the renin-angiotensin system (RAS) in ROP animals at the onset of retinopathy in the experimental model used. This opens up prospects for considering enalaprilat as a means of preventing the development of this pathology; however, the recognized high toxicity of the drug requires further studies and correction of the timing of its administration and dosage in order to achieve a balance of efficacy and safety of use in order to prevent the development of ROP in children.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: retinopathy of prematurity; experimental model; prevention; enalaprilat

Funding. The study was performed without external funding.

Received: 23.08.2022; revised: 18.03.2023; accepted: 29.03.2023.