

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ТРИМЕТАЗИДИН И МИЛДРОНАТ КАК β_2 -АДРЕНОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ ПРЯМОГО ДЕЙСТВИЯ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА)

Циркин В.И., Сизова Е.Н., Подтетенев А.Д., Братчикова Т.В., Анисимова О.В., Трухин А.Н., Дворянский С.А.

Кафедра нормальной физиологии и кафедра акушерства и гинекологии Кировской государственной медицинской академии; кафедра акушерства и гинекологии Российского университета дружбы народов; кафедра анатомии, физиологии и валеологии Вятского государственного педагогического университета

Ранее было установлено наличие в крови, моче, ликворе, околоплодных водах и слюне эндогенного сенсибилизатора β -адренорецепторов (ЭСБАР), под влиянием которого существенно возрастает β -адренореактивность гладких мышц коронарной артерии свиньи [1,2], трахеи коровы [2] и рога матки небеременной крысы [2,3]. В последующем было показано, что этот фактор следует отнести к β -адреномодуляторам прямого действия, так как его физиологический эффект развивается достаточно быстро и также быстро прекращается после его удаления из среды [2,3]. Выявлено, что гистидин, триптофан и тирозин в полной мере воспроизводят физиологическое действие ЭСБАР [2,4]. Уже в первых исследованиях было показано [2,3], что содержание в крови ЭСБАР, о чем судили по величине предельного разведения сыворотки крови, при котором еще наблюдается β -адреносенсибилизирующий эффект, зависит от пола (у женщин фертильного возраста его содержание намного больше, чем у мужчин), а у женщин - от этапа репродуктивного процесса (при беременности его уровень возрастает, а накануне родов снижается). Считается [2], что ЭСБАР играет важную физиологическую роль, в частности, при неосложненной беременности под его влиянием повышается β -адренореактивность миометрия, что способствует вынашиванию плода, но при определенных условиях ЭСБАР может быть причиной развития акушерской патологии. Так, было показано, что при слабости родовой деятельности уровень ЭСБАР у рожениц выше, чем при неосложненных родах [2]. Предполагается (на основе данных о повышенном содержании ЭСБАР при ОПГ-гестозе), что чрезмерное содержание ЭСБАР является одной из причин развития данной патологии [2,5]. С момента открытия ЭСБАР выдвигалось представление о возможности клинического применения его аналогов (триптофана, гистидина, тирозина) или других подобных ему веществ для лечения патологии, связанной с низкой эффективностью β -адренергического механизма [1,2,3]. Однако до настоящего времени это предположение не было реализовано, в том числе по причине отсутствия сведений о лекарственных препаратах, обладающих свойством β -адреносенсибилизатора прямого действия. В определенной степени исключение представляет триптофан. Еще задолго до открытия ЭСБАР триптофан стал применяться при лечении депрессивных состояний [6,7], в том числе, возникающих у женщин в климактерическом периоде [7]. К

сожалению, до настоящего времени внимание клиницистов не привлекла сама идея о существовании в организме человека эндогенных модуляторов хемореактивности, в том числе ЭСБАР, а также открытого еще 30 лет назад [8] и вновь обнаруженного в 1996 году [9] эндогенного блокатора М-холинорецепторов (ЭБМХР). Результаты данной работы, полученные при изучении механизмов действия триметазидина и милдроната, вероятно, позволяют по-новому взглянуть на значение эндогенных модуляторов хемореактивности, в том числе ЭСБАР и его аналогов (гистидина, триптофана и тирозина), а также открывают новые перспективы использования триметазидина, милдроната и других метаболических препаратов в клинической практике.

Как известно, предуктал, или триметазидин, используется при лечении ишемической болезни сердца и ряда других заболеваний сердечно-сосудистой системы [10-16]. В частности, у больных с ишемической болезнью сердца триметазидин снижает потребность в нитроглицерине, а также увеличивает время и объем выполнения нагрузок при велоэргометрии [13]. Считается, что антиангинальный эффект триметазидина обусловлен его влиянием на метаболизм миокардиоцитов, в том числе - за счет торможения окисления жирных кислот и увеличения использования для ресинтеза АТФ и креатинфосфата аэробного окисления глюкозы [13,16]. Кроме того, клинический эффект триметазидина объясняется характерным для него цитопротекторным действием - показано, что триметазидин увеличивает способность миокардиоцитов переносить гипоксию и одновременно тормозит свободнорадикальные процессы [11,13].

Милдронат, согласно отечественным авторам [12,17], за счет снижения карнитин-зависимого окисления жирных кислот улучшает метаболические процессы, повышает работоспособность, уменьшает симптомы психического и физического перенапряжения, оказывает кардиопротекторное действие, способствует перераспределению кровотока в ишемизированной зоне, в том числе - в головном мозге; оказывает положительное влияние на дистрофические изменения сосудов сетчатки. Установлена эффективность милдроната при стенокардии, инфаркте миокарда, при хронической сердечной недостаточности и дисгормональной кардиопатии, при инфекционно-аллергической бронхиальной астме и хроническом обструктивном бронхите, при острых и хро-

нических нарушениях кровоснабжения сетчатки и головного мозга [12, 17]. Подобно триметазидину, милдронат усиливает действие нитритов (нитроглицерина), блокаторов кальциевых каналов и ряда периферических вазодилататоров [12, 13, 17].

До настоящего времени в литературе отсутствовали данные о влиянии триметазидина и милдроната на β -адренореактивность органов и тканей. В связи с этим, была поставлена цель изучить влияние этих препаратов на сократительную активность и β -адренореактивность гладких мышц коронарной артерии свиньи, трахеи коровы, матки крысы и человека, а также на сердечную мышцу лягушки.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 32 циркулярных полосках проксимальных участков коронарной артерии 5 свиней породы крупной белой; на 23 продольных полосках дорзальной стенки трахеи 5 коров холмогорской породы; на 49 продольных полосках рога матки 18 небеременных беспородных крыс, взятых в опыт в фазу метаэструса или диэструса; на 11 полосках миометрии 3 беременных женщин, полученных при кесаревом сечении. Всего использовано 115 гладкомышечных полосок (их длина составляла 8-10 мм, ширина – 2-3 мм), исследование которых проводили спустя 1-16 ч от момента получения биоптата. В опытах использовано также 5 изолированных сердец травяной лягушки (*R. temporaria*).

Регистрацию сократительной активности (СА) гладкомышечных полосок и изолированных сердец проводили по методике [3] с использованием 6-канального «Миоцитографа» конструкции А.Г. Гусева и В.И. Циркина, состоящего из механотронов типа 6МХ1С, усилителей, термостата, шприцевого дозатора и самопишущих приборов типа Н-3020. Эксперименты проводились при температуре 38°C (на сердце лягушки – при 18-20°C), при пассивной аэрации рабочей камеры «Миоцитографа» (объемом 1 мл) и скорости перфузии камеры солевыми растворами, равной 0,7 мл/мин. Исходная нагрузка объектов исследования достигала 4,9 мН. Исследование сократительных эффектов и аденомодулирующей активности триметазидина (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} г/мл) и милдроната (10^{-7} , 10^{-6} и 10^{-5} г/мл) проводили на фоне спонтанной СА (полоски матки крысы и человека), а также в условиях СА, вызванной гиперкалиевым раствором Кребса (60 мМ KCl; на полосках матки крысы и 30 мМ KCl на полосках коронарной артерии свиньи), ацетилхолином (10^{-6} г/мл; на полосках трахеи коровы), а также с помощью электростимуляции (в опытах на сердце лягушки). Она проводилась с помощью электростимулятора типа ЭСЛ-1 (30-секундные непрерывные стимуляции прямоугольными импульсами длительностью 5 мс и амплитудой 5-10 В, идущих с частотой 1 Гц, при паузах между стимуляциями в 4-5 минут). Влияние триметазидина и милдроната на β -адренореактивность объекта оценивали путем сравнения сократительной реакции этого объекта на адреналин (10^{-7} или 10^{-6} г/мл), вводимый до, на фоне и после удаления исследуемого препарата. Продолжительность каждого этапа экспери-

мента в опытах с гладкомышечными объектами, как правило, была в пределах 10 минут, а в опытах на сердце – 30-60 с. Тоническую СА оценивали в мН, фазную СА – по числу спонтанных сокращений за 10 минут, по их амплитуде (мН) и по суммарной СА, т.е. по сумме амплитуд на 10-минутном интервале (мН/10мин). Деятельность сердца оценивали по максимальной амплитуде (в мН) его сокращений, вызываемых электростимулами.

В работе использовали раствор Кребса (pH-7,4), который имел следующий состав (в мМ): NaCl-136, KCl-4,7, CaCl_2 -2,52, MgCl_2 -1,2, KH_2PO_4 -0,6, NaHCO_3 -4,7, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ -11. В опытах на сердце лягушки использовали раствор Рингера для холоднокровных (в мМ): NaCl-114, KCl-1,6, CaCl_2 -1,8, NaHCO_3 -2,4. В процессе исследования применяли таблетированный триметазидин (предуктал) 20 мг фармацевтической группы Servier (Франция), раствор милдроната 10% - 5мл (ПАО Grindeks, Рига), раствор адреналина гидрохлорида 0,1% - 1мл (Московский эндокринный завод), ацетилхолина хлорид (Россия).

Результаты исследования подвергнуты статистической обработке методом вариационной статистики; различия между показателями оценивали по критерию Фишера-Стьюдента, считая их достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Основные результаты исследования представлены в таблицах 1-3 и на рисунках 1-4. Прежде всего, они свидетельствуют о том, что триметазидин (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} г/мл) и милдронат (10^{-7} , 10^{-6} и 10^{-5} г/мл), как правило, не влияли на спонтанную СА миометрии крысы или миометрии беременных женщин (табл. 1, рис. 1, панель б). Они не влияли и на вызванную гиперкалиевым раствором СА полосок миометрии небеременных крыс (табл. 2, рис. 1, панель в), полосок коронарной артерии свиньи (рис. 2, панель а), а также вызванные электростимуляцией сокращения сердца лягушки (табл. 3, рис. 4). Исключение составили полоски трахеи (табл. 2, рис. 3, панель б) - их тоническая активность, вызванная ацетилхолином (10^{-6} г/мл), достоверно снижалась (на 38,0% от исходного уровня) под влиянием триметазидина (10^{-6} г/мл). Эксперименты показали, что триметазидин (в концентрациях 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} г/мл) усиливает ингибирующее влияние адреналина на спонтанную СА миометрии беременных женщин (табл. 1, рис. 1, панель а), на спонтанную СА (табл. 1, рис. 1, панель б) и вызванную гиперкалиевым (60 мМ KCl) раствором Кребса СА (табл. 2, рис. 1, панель в) продольных полосок рога матки небеременных крыс, на тоническую активность циркулярных полосок коронарной артерии свиньи, вызванную гиперкалиевым (30 мМ KCl) раствором Кребса (табл. 2, рис. 2) и тоническую активность продольных полосок трахеи коровы, вызванную ацетилхолином в концентрации 10^{-6} г/мл (табл. 2, рис. 3). Так, в опытах на продольных полосках рога матки крысы (табл. 1; серия 3) адреналин (10^{-7} г/мл) в исходном состоянии практически не влиял на спонтанную СА – в его присутствие суммарная СА незначительно снижалась с 91,6 мН/10мин. до 79,4 мН/10мин., или до 93,1% от исходного уровня ($p > 0,5$). На фоне же триметазидина (10^{-7} г/мл) адреналин в прежней концентрации оказывал

Таблица 1

Суммарная сократительная активность (СА) продольных полосок рога матки небеременных крыс и миометрия беременных женщин при воздействии адреналина (10^{-7} г/мл) и лекарственных препаратов - триметазида или предуктала, (10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-7} г/мл) и милдроната (10^{-7} и 10^{-6} г/мл)

Этапы эксперимента							
0	1	2	3	4	5	6	7
Значения суммарной сократительной активности	Исходная активность	Адреналин (1-е тестирование)	Суммарная СА после адреналина (фоновая СА)	Лекарственный препарат	Адреналин на фоне лекарственного препарата (2-е тестирование)	Суммарная СА после удаления адреналина и препарата (фоновая СА)	Адреналин (3-е тестирование)
Серия 1. Продольные полоски рога матки крысы - предуктал, 10^{-9} г/мл (6 опытов)							
В мН/10мин	42,5±8,66	38,4±11,2	46,1±9,31	56,3±12,4	20,0±3,82	49,7±11,2	52,9±15,6
В %	100±0	90,7±13,5	110±7,21	121±9,09*	47,3±8,31* а	104±7,10	101±13,8
Серия 2. Продольные полоски рога матки крысы - предуктал, 10^{-8} г/мл (9 опытов)							
В мН/10мин	65,8±10,4	58,8±5,97	67,5±10,43	73,9±11,9	29,7±6,51* а	68,8±11,1	62,3±11,2 с
В %	100±0	96,9±10,1	106±7,76	109±8,41	44,6±9,20* а	104±12,2	91,4±7,27 с
Серия 3. Продольные полоски рога матки крысы - предуктал, 10^{-7} г/мл (8 опытов)							
В мН/10мин	91,6±12,3	79,4±10,7	89,5±9,39	90,7±9,78	21,1±6,25* а	74,1±10,5	73,0±11,8 с
В %	100±0	93,1±10,4	102±8,48	95,4±4,39	26,1±9,25* а	82,5±6,51*	100±10,4 с
Серия 4. Продольные полоски рога матки крысы - милдронат, 10^{-7} г/мл (6 опытов)							
В мН/10мин	149±41,1	144±40,9	154±41,3	137±38,7	91,8±33,2*	117±36,9	120±39,5
В %	100±0	95,9±3,36	105±8,09	87,2±4,63	62,3±12,6* а	75,2±12,9	101±3,70 с
Серия 5. Продольные полоски рога матки крысы - милдронат, 10^{-6} г/мл (9 опытов)							
В мН/10мин	53,1±16,2	42,9±13,8	44,3±12,3	40,8±8,53	14,9±9,11*	34,3±7,69	27,6±8,28
В %	100±0	83,5±9,68	88,0±7,54	102±8,52	27,1±8,11* а	88,7±13,5	76,3±13,5* с
Серия 6. Полоски миометрия беременных женщин - предуктал, 10^{-7} г/мл (11 опытов)							
В мН/10мин	32,7±8,20	64,1±14,2*	-	36,7±11,5	35,8±7,06 а	21,8±3,76	90,7±24,5с
В %	100±0	199 ± 30,9*	-	114±13,6	116±14,6 а	100±0	251±28,8 с

Примечание: * - различия со значениями 1 этапа достоверны, ($p < 0,05$); а, б, с – означают достоверность различий ($p < 0,05$) между первым и вторым (а), первым и третьим (б) и вторым и третьим (с) тестированиями адреналином (или, соответственно, между значениями 2 и 5, 2 и 7, 5 и 7 этапов эксперимента). Для серий 1-5 значения суммарной сократительной активности полосок, представленные в колонках 2 и 3, в колонках 4, 5 и 6, а также в колонке 7, выражены в процентах, соответственно к значениям колонок 1, 3 и 6, т.е. к фоновой активности.

выраженный ингибирующий эффект – он угнетал суммарную СА до 21,1 мН/10мин, или до 25,1% от исходного уровня ($p < 0,05$). Второй пример касается циркулярных полосок коронарной артерии свиньи (табл. 2, рис.2) - адреналин (10^{-7} г/мл) исходно незначительно снижал их тоническую активность, вызванную 30 мМ КСl, - с 9,25 мН до 8,40 мН, т.е. до 87,9% от исходного уровня, а на фоне триметазида (10^{-6} г/мл) в прежней концентрации он уже вызывал выраженное снижение тонической активности - до 5,67 мН, т.е. до 55,2% от исходного уровня ($p < 0,05$). На продольных полосках трахеи коровы (табл.2, рис.3), тоническая активность которых под влиянием ацетилхолина (10^{-6} г/мл) достигала в среднем 13,2 мН, триметазидин (10^{-6} г/мл) сам по себе достоверно снижал эту активность до 9,92 мН (или до 70,1% от исходного уровня), адреналин (10^{-7} г/мл) - до 6,83 мН (или до 68,1%), а при совместном воздействии они полностью угнетали эту активность до базального тонуса, т.е. до нулевых значений ($p < 0,05$). В опытах с полосками миометрия крыс выявлено, что с ростом концентрации триметазида его способность повышать ингибирующий эффект адреналина, т.е. проявлять β -адреносенсибилизирующую активность, возрастает.

Милдронат, подобно триметазидину, также повышает ингибирующий эффект адреналина. Это было выявлено в экспериментах с продольными полосками рога матки небеременных крыс (табл. 1) и с циркулярными полосками коронарной артерии свиньи (табл.2). В частности, в опытах с продольными полосками рога матки крысы (табл. 1; серия 5) адреналин сам по себе в концентрации 10^{-7} г/мл угнетал их суммарную СА с 53,1 мН/10мин до 42,90 мН/10мин. (или до 83,5% от исходного уровня), т.е. оказывал слабый ингибирующий эффект. Однако на фоне милдроната (10^{-6} г/мл), который существенно не влиял на СА, адреналин в прежней концентрации вызывал выраженный ингибирующий эффект - угнетал суммарную СА до 14,9 мН/10мин. или до 27,1%. Указанные различия носят достоверный характер ($p < 0,05$). В опытах с циркулярными полосками коронарной артерии свиньи (табл.2) адреналин в концентрации 10^{-7} г/мл не проявлял релаксирующее действие - он недостоверно снижал их тоническую активность, вызванную 30 мМ КСl, с 8,53 мН до 8,23 мН, т.е. до 96,7% от исходного уровня. Однако на фоне милдроната (10^{-5} г/мл) адреналин в прежней концентрации оказывал выраженный релаксирующий эффект - он снижал

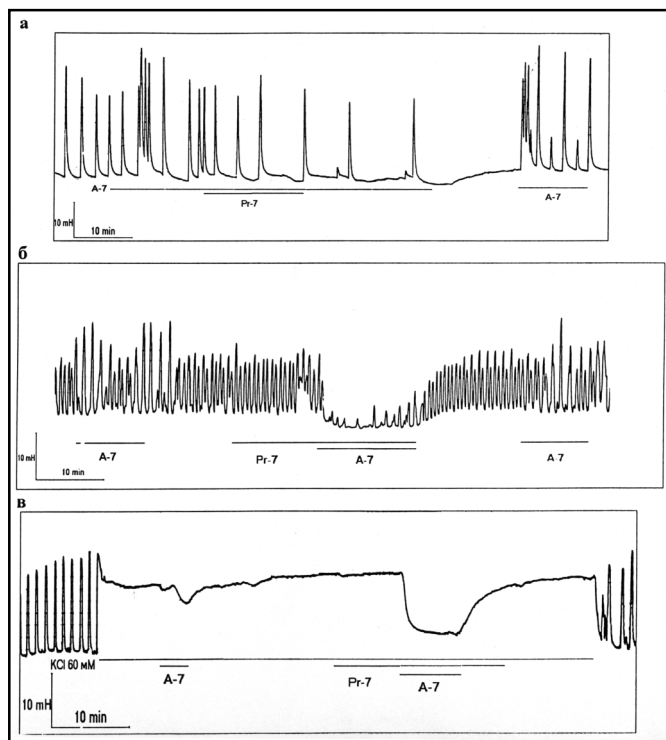


Рис.1 Механограммы трех полосок: панель *а* – миометрия беременной женщины, *б* – миометрия крысы, *в* – миометрия крысы с тонусом, повышенным гиперкалиевым раствором Кребса, демонстрирующие аденомодулирующее влияние предуктала.

Примечание: горизонтальные линии под механограммой обозначают момент воздействия гиперкалиевого раствора Кребса (60 мМ), предуктала (10^{-7} ; Pr-7) и адреналина (10^{-7} ; A-7). Калибровка 10 мН, 10 мин.

тоническую активность до 6,27 мН, т.е. до 62,1% от исходного уровня ($p < 0,05$).

Таким образом, эксперименты с гладкомышечными объектами показали, что триметазидин и милдронат повышают способность адреналина оказывать ингибирующий или релаксирующий эффект, который, как известно [2, 18], реализуется за счет активации β -адренорецепторов. Следовательно, эти вещества проявляют β -адреносенсибилизирующий эффект. При этом во всех экспериментах данный эффект триметазидина и милдроната проявлялся достаточно быстро (в пределах 1-2 минут от начала введения препарата) и также быстро прекращался после его удаления. Наличие β -адреносенсибилизирующего эффекта не зависело от последовательности воздействия на объект (адреналин + триметазидин или триметазидин + адреналин), а также от числа повторных воздействий (каждое введение триметазидина на фоне адреналина сопровождалось усилением ингибирующего действия адреналина). Все это указывает на многократную воспроизводимость и обратимость β -адреносенсибилизирующего эффекта триметазидина и милдроната.

Опыты на продольных полосках рога матки крысы выявили, что пиперазин (10^{-7} г/мл), близкий по химической структуре к триметазидину, а также строфантин К (10^{-7} г/

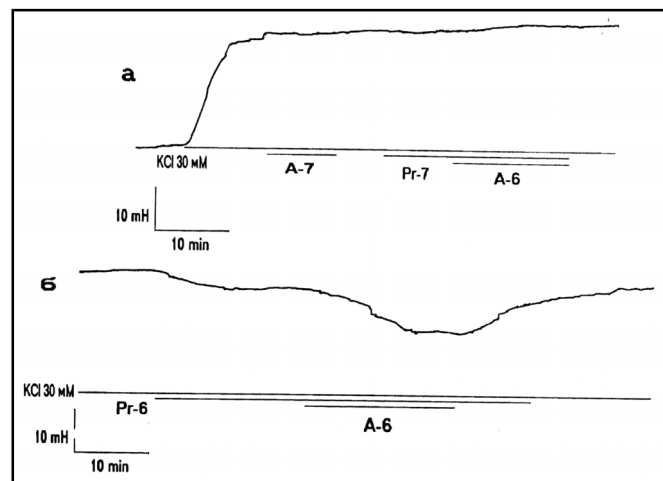


Рис. 2 Механограмма циркулярной полоски коронарной артерии свиньи, демонстрирующая релаксирующий и β -адреносенсибилизирующий эффект предуктала, панель *а* – начало эксперимента, *б* – продолжение.

Примечание: горизонтальные линии под механограммой обозначают момент воздействия гиперкалиевого раствора Кребса (30 мМ), предуктала (10^{-7} , 10^{-6} г/мл; Pr-7, Pr-6) и адреналина (10^{-7} , 10^{-6} г/мл; A-7 и A-6). Калибровка 10 мН, 10 мин.

мл), повышающий, как известно [12], силу сердечных сокращений, не проявляют β -адреносенсибилизирующее действие, характерное для триметазидина или милдроната.

В опытах с изолированным сердцем лягушки (табл.3, рис. 4), независимо от используемых концентраций адреналина (10^{-7} или 10^{-6} г/мл) или триметазидина (10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-7} г/мл), не удалось выявить способность триметазиди-

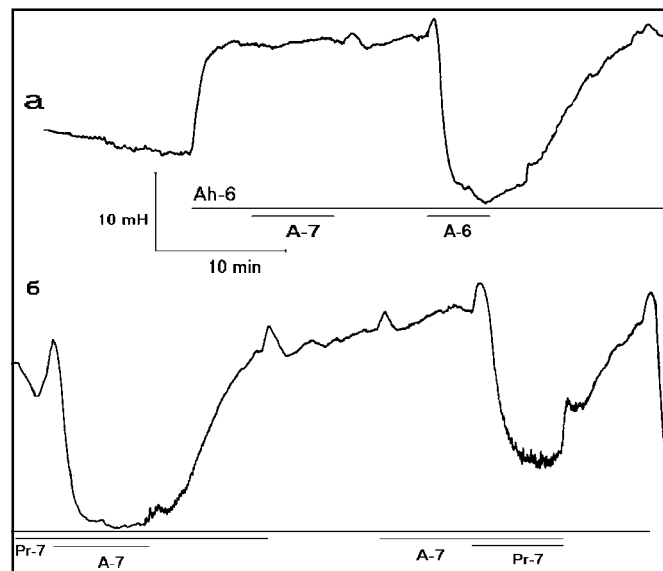


Рис. 3 Механограмма продольной полоски трахеи коровы (панель *а* – начало, *б* – продолжение эксперимента), демонстрирующая β -адреносенсибилизирующий эффект предуктала (10^{-7} г/мл, Pr-7).

Примечание: горизонтальные линии под механограммой обозначают момент воздействия ацетилхолина (10^{-6} г/мл, Ah-6), адреналина (10^{-7} г/мл, A-7) и предуктала. Калибровка 10 мН, 10 мин.

Таблица 2

Величина вызванной тонической активности гладкомышечных объектов и ее изменение под влиянием адреналина, триметазида и милдроната

Этапы опыта	Характер воздействия	Величина тонической активности	
		в мН	в % к вызванному сокращению
Серия 1. Циркулярные полосы коронарной артерии свиньи (n=7). Влияние триметазида (10 ⁻⁶ г/мл) на релаксирующий эффект адреналина (10 ⁻⁷ г/мл) в условиях гиперкалиевого (30 мМ KCl) раствора Кребса.			
1	KCl	9,31±1,74	100±0
2	KCl + адреналин, 10 ⁻⁶	5,22±1,32*	54,3±9,51*
3	KCl	9,25±1,51	99,4±5,68
4	KCl + адреналин, 10 ⁻⁷	8,40±1,77	87,9±5,82
5	KCl + адреналин, 10 ⁻⁷ + триметазидин, 10 ⁻⁶	5,76±1,31*a	55,2±10,2*a
6	KCl + адреналин, 10 ⁻⁷	9,52±1,98	95,9±8,15
7	KCl	10,7±2,97	103±17,1
Серия 2. Циркулярные полосы коронарной артерии свиньи (n=5). Влияние милдроната (10 ⁻⁵ г/мл) на релаксирующий эффект адреналина (10 ⁻⁷ г/мл) в условиях гиперкалиевого (30 мМ KCl) раствора Кребса.			
1	KCl	8,53±2,91	100±0
2	KCl + адреналин, 10 ⁻⁷	8,23±2,92	96,7±4,68
3	KCl+ адреналин, 10 ⁻⁷ + милдронат, 10 ⁻⁵	6,27±2,25*	62,1±17,8* b
4	KCl + адреналин, 10 ⁻⁷	8,33±2,52	102±7,95
5	KCl	8,92±1,98	105±7,06
6	KCl + адреналин, 10 ⁻⁶	5,61±1,34*	62,8±9,40*
Серия 3. Продольные полосы трахеи коровы (n=13). Влияние триметазида (10 ⁻⁶ г/мл) на релаксирующий эффект адреналина (10 ⁻⁷ г/мл) в условиях сокращения, вызванного ацетилхолином (AX, 10 ⁻⁶ г/мл).			
1	AX	13,2±1,76	100
2	AX + адреналин, 10 ⁻⁷	6,83±2,06	68,1±9,90*
3	AX	13,8±2,56	105±9,32
4	AX + адреналин, 10 ⁻⁶	2,40±0,59* b	19,0±1,2* b
5	AX	14,5±2,41	110±10,1
6	AX+ триметазидин, 10 ⁻⁶	9,92±0,68	70,1±6,51
7	AX + триметазидин, 10 ⁻⁶ + адреналин, 10 ⁻⁷	0,0±0,0* b	0,0±0,0* b
8	AX	16,3±1,83	123,0±12,4
Серия 4. Продольные полосы рога матки небеременных крыс (n=9). Влияние триметазида (10 ⁻⁷ г/мл) на релаксирующий эффект адреналина (10 ⁻⁷ г/мл) в условиях гиперкалиевого (60 мМ KCl) раствора Кребса.			
1	KCl	8,33±0,83	100±0
2	KCl + адреналин, 10 ⁻⁷	5,01±0,69*	62,1±4,57*
3	KCl + триметазидин, 10 ⁻⁷	7,84±0,83	92,1±3,34
4	KCl + триметазидин, 10 ⁻⁷ + адреналин, 10 ⁻⁷	2,89±0,59* b	32,8±5,4* b

Примечания: * - различия с исходной тонической активностью достоверны, $p < 0,05$; а и б - различия со значениями 4-го этапа (в серии 1) и со значениями 2-го этапа (в сериях 2,3 и 4), достоверны $p < 0,05$.

на повышать положительный инотропный эффект адреналина. Например (табл. 3), в серии 3 адреналин в концентрации 10^{-7} г/мл не оказывал существенного влияния на вызванные сокращения миокарда (их амплитуда в его присутствии составляла 104% от исходного уровня); три-

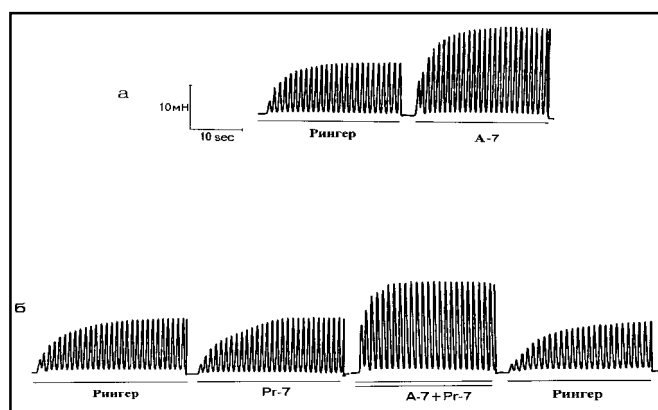


Рис. 4 Механограмма миокарда лягушки (панель а – начало; б – окончание эксперимента), демонстрирующая отсутствие β_1 -адреносенсибилизирующей активности предуктала.

Примечание: горизонтальные линии под механограммой обозначают моменты воздействия адреналина (10^{-7} г/мл, A-7) и предуктала (10^{-7} г/мл, Pr-7). Калибровка 10 мН, 10 сек.

метазидин в концентрации 10^{-7} г/мл сам по себе или совместно с адреналином также не влиял на их величину (она составляла, соответственно, 98,6% и 105%; $p > 0,5$). В серии 6 (табл. 3) показано, что адреналин (10^{-6} г/мл) существенно увеличивает амплитуду сокращения миокарда (до 191% от исходного уровня); триметазидин (10^{-7} г/мл) сам по себе не повышал амплитуду сокращений (она составляла 92,1% от исходного уровня) и не увеличивал положительный инотропный эффект адреналина (амплитуда сокращений составляла 185%).

Обсуждение результатов

Итак, опыты, проведенные на гладких мышцах коронарной артерии свиньи (32 циркулярных полосы), трахеи коровы (23 продольных полосы), рога матки небеременной крысы (49 продольных полосок) и матки беременных женщин (11 полосок), а также на сердечной мышце лягушки (5 сердец), показали, что триметазидин (10^{-9} – 10^{-6} г/мл) и милдронат (10^{-7} – 10^{-5} г/мл) не влияют на параметры спонтанной или вызванной СА гладкомышечных объектов, но существенно (быстро и обратимо) способны повышать их β -адренореактивность (независимо от уровня поляризации миоцитов и от числа повторных воздействий). Эта способность достаточно специфична – триметазидин не влияет на М-холинореактивность миомеритрия, а другие вещества, в том числе близкие по структуре (пиперазин) или по месту приложения (строфантин К), не повышают β -адренореактивность миоцитов. В то же время, триметазидин (как, вероятно, и милдронат) не влияет на β -адренореактивность изолированного сердца лягушки. С учетом наших данных [1–4] о наличии в организме человека и животных эндогенного сенсибилизатора β -адренорецепторов прямого действия (ЭСБАР), наиболее вероятными компонентами которого являются гистидин, триптофан и тирозин, полученные результаты исследования (по аналогии) позволяют рассматривать триметазидин и милдронат как экзогенные β -адреносен-

Таблица 3

Максимальная амплитуда сокращений изолированного сердца лягушки при воздействии адреналина (10^{-7} и 10^{-6} г/мл) и триметазидина (предуктала; 10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-7} г/мл) в мН или в процентах к исходному уровню

Величина максимальной амплитуды сокращения сердца	Этапы эксперимента						
	1	2	3	4	5	6	7
	Раствор Рингера	Адреналин (1-е тестирование)	Раствор Рингера	Предуктал	Адреналин на фоне предуктала (2-е тестирование)	Раствор Рингера	Адреналин (3-е тестирование)
Серия 1 - предуктал, 10^{-9} г/мл; адреналин, 10^{-7} г/мл (5 опытов)							
В мН	8,13±0,71	8,43±0,79	8,23±0,68	7,94±0,78	8,23±0,87	8,13±0,57	8,53±0,71
В процентах	100±0	103±2,19	101±1,33	95,9±2,39	103±1,41	99,2±2,65	104±1,99
Серия 2 - предуктал, 10^{-8} г/мл; адреналин, 10^{-7} г/мл (5 опытов)							
В мН	8,13±0,32	8,53±1,01	8,13±0,69	8,13±0,63	8,53±0,78	8,33±0,88	8,58±0,89
В процентах	100±0	104±2,06	99,8±2,27	100±2,83	104±1,95	102±2,74	104±1,49
Серия 3 - предуктал, 10^{-7} г/мл; адреналин, 10^{-7} г/мл (5 опытов)							
В мН	8,33±0,88	8,62±0,89	8,13±0,72	8,04±0,77	8,43±2,00	8,62±0,72	8,82±0,83
В процентах	100±0	104±1,49	98,5±2,67	98,6±2,23	105 ±2,11	105±1,37	102±1,17
Серия 4 - предуктал, 10^{-9} г/мл; адреналин, 10^{-6} г/мл (5 опытов)							
В мН	5,88±1,08	12,2±3,23	6,17±1,19	5,49±0,96	12,1±3,14	6,08±1,20	12,2±3,03
В процентах	100±0	196±15,8*	104±5,43	90,5±2,90	211±22,8*	98,3±1,67	195±12,6*
Серия 5 - предуктал, 10^{-8} г/мл; адреналин, 10^{-6} г/мл (5 опытов)							
В мН	6,08±1,20	12,2±3,03	5,78±1,22	5,39±1,13	11,5±2,96	5,98±1,27	11,6±2,83
В процентах	100±0	195±12,6*	93,9±5,14	94,1±4,95	206±21,3*	103±2,20	192±10,2
Серия 6 - предуктал, 10^{-7} г/мл; адреналин, 10^{-6} г/мл (5 опытов)							
В мН	5,98 ±1,27	11,6±2,83	5,78±1,20	5, 29±2,22	10,2±2,80	5,88±1,21	11,3±2,58
В процентах	100±0	192±10,2*	97,4±1,70	92,1±2,58	185±27,9	103±4,61	188±9,92*

Примечание: * - различия со значениями 1 этапа достоверны, ($p < 0,05$); a, b, c – означают достоверность различий ($p < 0,05$) между первым и вторым (a), первым и третьим (b) и вторым и третьим (c) тестированиями адреналином (или, соответственно, между значениями 2 и 5, 2 и 7, 5 и 7 этапов эксперимента). Для серий 1-5 значения суммарной сократительной активности полосок, представленные в колонках 2 и 3, в колонках 4, 5 и 6, а также в колонке 7, выражены в процентах, соответственно к значениям колонок 1, 3 и 6, т.е. к фоновой активности.

сублизаторы прямого действия. Принимая во внимание, что ингибирующее влияние адреналина на СА гладкомышечных полосок реализуется, главным образом, за счет активации β_2 -адренорецепторов, а его стимулирующее влияние на силу сердечных сокращений - за счет активации β_1 -адренорецепторов [2, 18], можно заключить, что триметазидин (и, вероятно, милдронат) является селективным β_2 -адреносенсибилизатором прямого действия. Основу β_2 -адреносенсибилизирующего эффекта триметазидина и милдроната (так же, как ЭСБАР, гистидина, триптофана и тирозина), вероятнее всего, составляет их способность повышать эффективность взаимодействия адреналина (и норадреналина) с β -адренорецепторами. С учетом современных представлений о физиологии β -адренорецепторов [2, 18, 19] можно предположить, что эта способность реализуется за счет одного из трех (как минимум) возможных процессов: 1) за счет аллостерического изменения конформационного состояния β -адренорецепторов, в результате которого возрастает сродство рецептора к агонисту; 2) за счет ингибирования активности ряда ферментов, участвующих в фосфорилировании β -адренорецепторов (киназы β -адренорецепторов, протеинкиназы А и β -аррестина), благодаря которому рецепторы утрачивают сродство к

агонисту; 3) за счет повышения активности фосфатазы, участвующей в дефосфорилировании β -адренорецепторов и, тем самым, восстанавливающей их сродство к агонисту. Какой из указанных механизмов реализуется при действии триметазидина и милдроната – покажут будущие исследования.

Очевидно, что известные положительные клинические эффекты триметазидина [10-16] и милдроната [12, 17], в том числе антиангинальные, антиоксидантные и цитопротекторные эффекты могут быть обусловлены β -адреносенсибилизирующей активностью этих лекарственных средств. Поэтому дальнейшее изучение клинического применения этих препаратов как β_2 -адреносенсибилизаторов прямого действия, в том числе в комплексе с блокаторами кальциевой проницаемости, селективными β_2 -адреномиметиками, спазмолитиками, а также с адреномодуляторами косвенного действия, например, с тироксином [20], является, с нашей точки зрения, перспективным в кардиологии, а также в других областях медицины (например, в пульмонологии, в акушерстве) для коррекции и лечения патологических состояний, обусловленных низкой эффективностью β -адренергического механизма.

Обнаружение принципиально нового свойства у триметазидина и милдроната дает основание сделать вывод

о необходимости и целесообразности оценки способности используемых в клинической практике лекарственных препаратов оказывать прямой β -адреносенсибилизирующий эффект. Это открывает широкую перспективу для разработки новых методов лечения патологии внутренних органов, связанной с низкой эффективностью β -адренергического механизма, а также для терапии депрессивных состояний, которые возникают при снижении β -адренореактивности нейронов мозга. В этом отношении показательна эффективность триптофана при лечении депрессивных состояний [6, 7]. Очевидно, что триметазидин и милдронат можно также рассматривать в качестве потенциальных средств для купирования депрессивных состояний, в том числе в комплексе с гистидином, триптофаном или тирозином.

С другой стороны, обнаружение у триметазида и милдроната, которые уже достаточно широко применяются в кардиологии, способности оказывать прямой β -адреносенсибилизирующий эффект, позволяет впервые реально оценить физиологическое значение ЭСБАР и его наиболее вероятных компонентов - гистидина, триптофана и тирозина, по крайней мере, в отношении коронарного кровотока и миокарда, а также говорить о перспективности применения в клинической практике этих трех аминокислот. Не исключено, что эти аминокислоты, помимо способности повышать β -адренореактивность клеток организма, могут (подобно триметазидину и милдронату) оказывать антиангинальный, цитопротекторный и антиоксидантный эффект. С этих позиций, регуляция постоянства уровня гистидина, триптофана и тирозина во внутренней среде организма, возможно, играет ключевую роль в его дея-

тельности. Следовательно, дальнейшее изучение физиологической роли гистидина, триптофана и тирозина как наиболее вероятных компонентов ЭСБАР следует считать одним из перспективных направлений в физиологии и медицине. В рамках этого направления интерес представляет поиск наиболее простого, оптимального пути введения пищевых продуктов, богатых ароматическими аминокислотами и исследование эффективности энтерального пути введения аминокислот при лечении ишемической болезни сердца, бронхиальной астмы и других болезней, вызванных низкой эффективностью β -адренергического механизма. С этих позиций очевидна и перспективность использования гистидина, триптофана и тирозина при гипоксических состояниях, так как эти аминокислоты, подобно триметазидину, должны снижать интенсивность свободнорадикального окисления и проявлять цитопротекторное действие. Недавно [21] была продемонстрирована способность гистидина в условиях *in vitro* повышать устойчивость нейронов мозжечка крысы к гипоксии.

Учитывая эффективность триметазида и милдроната в профилактике и лечении ишемической болезни сердца и ряда других патологических состояний, обусловленных низкой эффективностью β -адренергического механизма, становится актуальной оценка уровня эндогенного ЭСБАР (а также гистидина, триптофана и тирозина, как его компонентов) в крови или моче пациентов при использовании этой группы лекарственных препаратов. Для этих целей может быть рекомендован биометод [3], основанный на использовании в качестве тест-объекта продольных полосок рога матки небеременной крысы, СА которых регистрируется с помощью «Миоцитографа».

Литература

1. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев А.Д. и др. Повышение β -адренореактивности коронарных артерий под влиянием сыворотки крови // Доклады РАН.- 1996.- Т. 351, №4.- С. 565-566.
2. Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции).- Киров, 1997.- 270 с.
3. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев А.Д. и др. Адреномодулирующие эффекты крови, ликвора, мочи, слюны и околоплодных вод человека // Доклады РАН. -1997.- Т. 352, № 1.- С.124-126.
4. Ноздрачев А.Д., Туманова Т.В., Дворянский С.А. и др. Активность ряда аминокислот как возможных сенсибилизаторов β -адренорецепторов гладкой мышцы // Доклады РАН.- 1998.- Т. 363, № 1. - С. 133-136
5. Колобова Е.В., Дворянский С.А., Циркин В.И. Оценка β -адренореактивности эритроцитов у рожавших женщин // Физиология человека.- 1998.- Т.24, № 3.- С. 134-142.
6. Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.У. и др. Аминокислоты в медицине.- Киев, Здоровье, 1982.- С.139-151
7. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология: В 2-х книгах. - СПб, 1995.- Кн. 1. - 223 с; Кн. 2. - 200 с
8. Звездина Н.Д., Турпаев Т.М. Холинолитические свойства сыворотки крови // Физиол. Ж. СССР.-1970.- Т. 56, № 8.- С. 1136-1141
9. Циркин В.И., Дворянский С.А., Осокина А.А. и др. Способность сыворотки крови человека ингибировать сократительную реакцию миомерия на ацетилхолин // Лекарственное обозрение. (Киров) - 1996.- № 4.- С. 49-54. .
10. Fabiani J, Ponzio O, Emerit I. et al. Cardioprotective effect of trimetazidine during coronary artery graft surgery // J. Cardiovasc. Surg.- 1992, Vol. 4. - P. 486-491
11. Fantini E, Demaison L, Sentex E et al. Some biochemical aspects of the protective effect of trimetazidine on rat cardiomyocytes during hypoxia and reoxygenation // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1994.- Vol. 26. - P. 949-958
12. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2000. Т-1. - 540; Т2. - 608 с.
13. Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В. Ишемия миокарда: от понимания механизмов к адекватному лечению // Кардиология.- 2000.- Т. 40.- № 9 (приложение).- С. 106-119
14. Chierchia S. Влияние триметазида на ишемическую дисфункцию левого желудочка у больных ИБС //Международный симпозиум по проблемам сердечного метаболизма. Научная программа и тезисы. - М., 2000. - С. 11
15. Hradek J. Применение триметазида в комбинации с ранее назначенной антиангинальной терапией у больных со стабильной стенокардией напряжения Результаты Чешского и Сло-

- вацкого многоцентрового исследования //Международный симпозиум по проблемам сердечного метаболизма. Научная программа и тезисы. – М., 2000. – С. 21
16. Loraschuk G. Стимуляция сердечного метаболизма при ишемической болезни сердца: возможности терапевтического воздействия на метаболизм углеводов и жирных кислот /Международный симпозиум по проблемам сердечного метаболизма. Научная программа и тезисы. – М., 2000. – С. 7
17. Ольбинская Л.И., Голоколенкова Г.М. Применение милдроната при сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца // Клин. мед. - 1990.- № 1.- С. 39-42.
18. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ: - Волгоград: «Семь ветров», 1999. – 640 с.
19. Haussdorff W., Caron M. , Lefkowitz R. Turning of the signal: desensitization of b-adrenergic receptor function // FASEB Journal.- 1990.- Vol.4, № 11.- P. 2881 - 2889
20. Сазанов А.В., Ноздрачев А.Д., Циркин В.И., Дворянский С.А. О наличии эндогенного активатора синтеза b-адренорецепторов (модулятора b-адренореактивности косвенного действия) в сыворотке крови и околоплодных водах человека // Доклады РАН.- 2000.- Т. 372, № 2.- С. 272- 275.
21. Власова И.Г., Циркин В.И. Изучение антигипоксических свойств некоторых аминокислот–модуляторов адренергических структур //Эколого-физиологические механизмы адаптации: Материалы IX межд. научн. конф. – М.: изд-во РУДН, 2000. – С. 173.

Поступила 23/11-2001

* * *