© Коллектив авторов, 1997 г.
УДК 615.22:616.63-008.64-092.9

М.В.Оглуздина, Т.А.Барабанова, Н.А.Пенчул, Л.И.Шишкина, В.М.Берестовицкая

ВЛИЯНИЕ ФЕНИБУТА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ И МИОКАРДА ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ УРЕМИИ У КРЫС

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова, Россия
Кафедра органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.И.Герцена, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

Исследовали влияние фенильного производного гамма-аминомасляной кислоты - фенибута на авторитмическую сократительную активность венозных сосудов, механическую активность и ритмоинотропные отношения в миокарде крыс с экспериментальной уремией. Применение фенибута (2 мг/200 г массы тела крысы) снижало частоту авторитмической сократительной активности воротной вены крыс с уремией и силу сокращений папиллярной мышцы миокарда контрольных и нефрэктомированных крыс. Длительное (2 мес) применение фенибута препятствовало подавлению функциональной активности гладкомышечных клеток воротной вены, характерному для развития уремии II степени.

Фенибут вызывал активацию кальцийпоглощающей и кальцийвыделительной функции саркоплазматического ретикулума миокарда контрольных крыс и крыс с экспериментальной хронической почечной недостаточностью.

ABSTRACT

In this study we examined the effect of GABAs derivate - phenibut on spontaneously phasic contraction of portal vein and myocardial rhythmoinotropic relationships in rats with experimental uremia. Our data demonstrated that phenibut in dosage 2 mg per 200 g rats mass significantly decrease: (1) contractile force of papillares muscle in control and in uremic rats (2) contractile frequency of portal vein in rats with chronic renal failure. Long-term treatment (during 2 month) with phenibut prevented from depression of vascular smooth muscle cells functional activity, that typicaly to second stage of uremia. Both in control and in rats with experimental chronic renal failure the Ca-released and Ca-absorbed function of sarcoplasmic reticulum was enhanced by phenibut action.

Ключевые слова: фенибут, хроническая почечная недостаточность, экспериментальная уремия, субтотальная нефрэктомия.

Key words: phenibut, chronic renal failure, experimental uremia, subtotal nephrectomy.

Введение

Биологически активные вещества, близкие к метаболитам организма и их аналогам, особенно нейроактивные аминокислоты и их синтетические аналоги, вызывают обоснованный интерес физиологов и клиницистов как средства с широким спектром физиологической активности. Их применение открывает новые перспективы для лечения ряда заболеваний и коррекций патологических состояний человека.

Фенильное производное гамма-аминомасляной кислоты - фенибут оказывает влияние на системное и регионарное кровообращение [2, 4], механизмы вазомоторной регуляции, обладает высокой антигипоксической и антистрессорной активностью [3].

Целью работы являлось исследование влияния фенибута на авторитмическую сократительную активность венозных сосудов, механическую активность и ритмоинотропные отношения в миокарде крыс с экспериментальной уремией.

Материал и методы

Для создания экспериментальной уремии применяли метод субтотальной нефрэктомии (НЭ), традиционно использующийся при изучении патогенеза уремии и получивший оценку как модель хронической почечной недостаточности (ХПН), при которой значительная редукция функциональной массы сочетается с прогрессирующим гломерулярным склерозом и протеинурией [6, 7]. Животным удаляли полюса одной почки, а спустя 7 дней удаляли вторую почку. В целом объем удаленной ткани составил 75 - 85 %. Оба этапа операции проводились под эфирным наркозом. Развитие уремии отслеживали по биохимическим показателям крови и мочи с использованием унифицированных методик. Крысы получали фенибут в дозах 2 и 10 мг на 200 г массы тела в течение 1 и 2 мес после второго этапа операции.

Фенибут был предоставлен проблемной лабораторией нитросоединений Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена (зав. каф. - В.М.Берестовицкая).

Сокращения фрагментов воротной вены (ВВ) крысы регистрировались с помощью механоэлектрического преобразователя 6МХ1С в изометрическом режиме в растворе Кребса при t = +34 ^{0}С, pH 7,4. Сигнал фиксировался в оперативной памяти ПЭВМ "ИМКО-2М1" с последующей записью на магнитном диске и автоматизированной обработкой электромиограмм по специально разработанной программе.

Исследование сократительной активности папиллярной мышцы из левого желудочка проводилось также в изометрическом режиме [1]. Наиболее информативными при анализе действия фенибута на спонтанную сократительную активность ВВ являлись следующие параметры: частота авторитмической сократительной активности, общая амплитуда фазно-тонических сокращений, площадь под кривой сокращений за 1 мин и базальный тонус ВВ. Анализировали также следующие параметры : амплитуда изометрических сокращений, выраженность лестницы Боудича, постстимуляционная потенциация, потенциация покоем. Данные обрабатывались статистически с применением критериев Стьюдента и Вилкоксона.

Результаты

Авторитмическая сократительная активность ВВ у крыс с экспериментальной уремией в ходе опыта менялась дважды. Сначала регистрировалось увеличение функциональной активности гладкомышечных клеток (ГМК) ВВ (1 фаза), которое в последующем сменялось снижением активности вен (таблица, рис.1, 2).

При развитии уремии I степени (концентрация мочевины в сыворотке крови 13,3±0,8 ммоль/л) наблюдался рост функциональной активности ГМК ВВ: регистрировалось увеличение частоты сокращений на 37,8±3,5%, общей амплитуды сокращений на 102,2±4,8%, выполняемой веной работы на 96,4±14,3%. (таблица, рис.1, б). При развитии уремии II степени (концентрация мочевины в сыворотке крови 16,7± 0,5 ммоль/л) регистрировалось снижение функциональной активности ГМК ВВ: увеличивалась частота сокращений на 52,9±4,7%, снижалась общая амплитуда сокращений на 32,9±3,4% и выполняемая веной работа на 24,2±4,0% (таблица, рис.2, а).

Амплитуда изометрических сокращений папиллярных мышц левого желудочка сердца контрольных крыс при частоте стимуляции 0,5 Гц составляла 246,4±20,4 мг, при увеличении частоты стимуляций до 2 Гц регистрировалась постстимуляционная потенциация (ПСП) и потенциация покоем (ПП), которые составили 25,2±3,4% и 34,2±5,5 % соответственно (рис. 3, а).

Крысы с ХПН I степени характеризовались увеличением амплитуды изометрических сокращений папиллярных мышц на 38,6±4,7 % и уменьшением ПСП и ПП на 8±3,1% и 18±5,4 % по сравнению с контрольной группой животных (рис. 3, в).

У крыс с нефрэктомией, получавших фенибут в дозе 2 мг на 200 г массы тела в течение 1 мес после второго этапа операции, отмечалось снижение функциональной активности ГМК ВВ (таблица, рис.1, в) : была уменьшена общая амплитуда сокращений на 37,7±4,7% и выполняемая веной работа на 34,8±4,8% по сравнению с крысами с I степенью уремии (1 мес после второго этапа операции). При этом уровень мочевины в плазме крови крыс данной группы составил 13,1±3,7 ммоль/л.

В группе крыс, получавших фенибут в той же дозе 2 мес, функциональная сокра-тительная активность ГМК ВВ увеличивалась: снижалась частота сокращений на 61,1±3,3%, нарастали общая амплитуда на 443,5±32,0% и выполняемая веной работа на 232,9±16,3% в сравнении с крысами с уремией II степени (таблица, рис.2, б). Мочевина плазмы крови крыс данной группы достоверно не отличалась от данного показателя крыс с уремией II степени (14,5±3,7 ммоль/л).

Крысы, получавшие фенибут в большей дозе (10 мг на 200 г массы тела) 2 мес характеризовались также увеличением функциональной активности ГМК ВВ (рис.2, в), но степень выраженности была меньше: частота сокращений достоверно не изменялась, увеличилась общая амплитуда авторитмической сократительной активности на 96,4±3,6% и выполняемая веной работа на 76,7±4,2% в сравнении с крысами с уремией II степени. Уровень мочевины плазмы крови (11,8±4,0 ммоль/л) крыс этой группы также достоверно не отличался от такового у животных со II степенью ХПН.

Функциональная активность воротной вены крыс различных групп

Группа крыс	Частота сокращений в 1 мин	Общая амплитуда сокращений, мг	Площадь под кривой сокращений за 1 мин, усл. ед.
Контроль (n=8)	18,5 ± 2,5	120,3 ± 10,4	220,3 ± 4,6
ХПН-1 (n=5)	25,5 ± 2,2*	234,3 ± 4,7*	432,7 ± 8,0*
ХПН-2 (n=6)	28,3 ± 2,7*	80,7 ± 4,6*	167,0 ± 1,0*
ХПН + фенибут, 2 мг (1 мес) (n=5)	23,0 ± 4,2	151,5 ± 3,5*	282,0 ± 13,3*
ХПН + фенибут, 2 мг (2 мес) (n=8)	11,0 ± 2,0*	438,6 ± 16,6*	556,0 ± 18,7*
ХПН + фенибут, 10 мг (2 мес) (n=8)	22,5 ± 5,5	158,5 ± 19,3*	295,0 ± 23,4*

* Различия достоверны (P<0,01).

В группе крыс без нефрэктомии, получавших фенибут, миокард характеризовался снижением силы сокращений (СС) папиллярной мышцы на 34,6±6,2 %, однако увеличение частоты раздражений в 2,5 раза у экспериментальных животных приводило к увеличению ПСП на 57,5 ±8,3 % и ПП на 59,4±9,1 % (рис. 3, б).

У крыс с ХПН, получавших фенибут, СС была снижена по сравнению с крысами, не получавшими препарат на 31,5±5,2 %, ПСП и ПП увеличивались на 35,7±5,5% и 57,2±7,4 %, т. е. наблюдался эффект, отмеченный и у контрольных крыс, принимавших фенибут (рис.3, г).

Обсуждение

Использование модельных исследований, в частности моделирования ХПН на животных, открывает перспективы как для глубокого и всестороннего изучения клеточных механизмов формирования патологического процесса, так и в отношении поиска и отработки методов фармакологической коррекции на разных этапах формирования этого патологического состояния. Среди факторов, доминирующих в развитии ХПН, исключительное место занимает нарушение клеточного метаболизма кальция. Многочисленные литературные данные свидетельствуют о нескольких формах участия Са в патогенезе ХПН. Важную роль в этом процессе может играть вызванная увеличением внутриклеточной концентрации Са активация фосфолипаз, которая приводит к деградации фосфолипидов мембран и последующему нарушению функции мембран, их проницаемости. Учитывая, что ионы Са наряду с инозитолтрифосфатом, диацилглицеролом и цАМФ являются вторичными мессенджерами и действуют внутри клетки в очень малых концентрациях, в 1000 - 10 000 раз меньших, чем во внеклеточной жидкости. Стойкое увеличение концентрации свободного кальция в цитозоле приводит к необратимым нарушениям функции клеток, а затем к летальному их повреждению.

Развитие ХПН сопровождается увеличением проницаемости клеточных мембран ГМК для ионов кальция, приводящим к начальному росту функциональной активности ВВ и последующему ее снижению при формировании ХПН II степени. Фенибут в концентрации 2 мг вызывал значительное снижение частоты авторитмической сократительной активности, что является косвенным показателем блокады потенциалзависимых кальциевых каналов, ответственных за ритмогенез [5]. Регистрируемое увеличение амплитуды и выполняемой веной работы является, возможно, следствием сохранения нормальных хроноинотропных отношений.

Длительное (2 мес) применение фенибута препятствовало подавлению функциональной активности ГМК воротной вены, характерному для развития ХПН II степени. О блокаде потен-

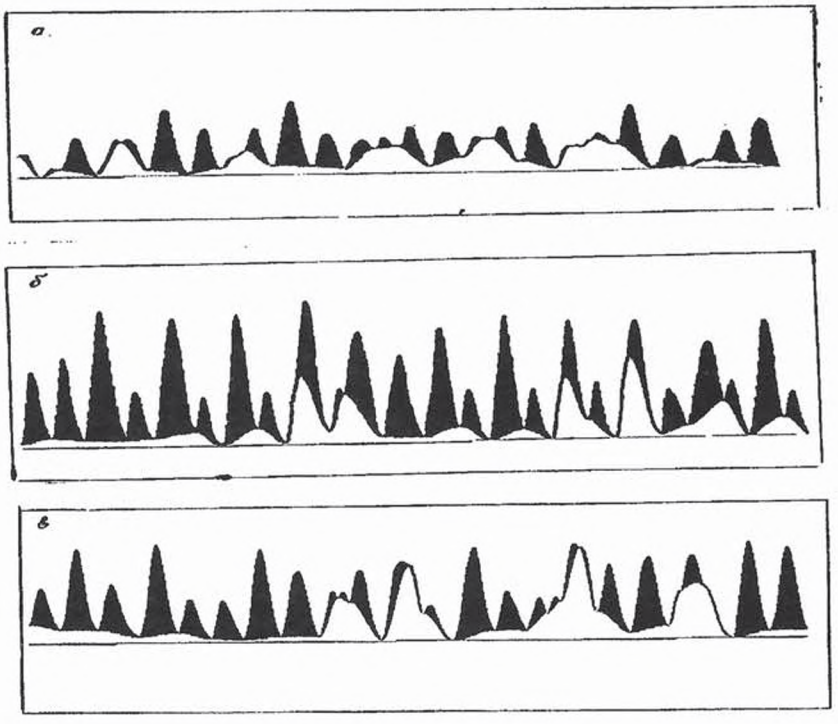

Рис. 1. Функциональная активность гладкомышечных клеток воротной вены крыс: а - контрольных, б - с уремией I степени, в - с уремией, получавших фенибут по 2 мг на 200 г массы тела 1 мес (оригинальная миограмма, машинная графика). Время записи - 1 мин.

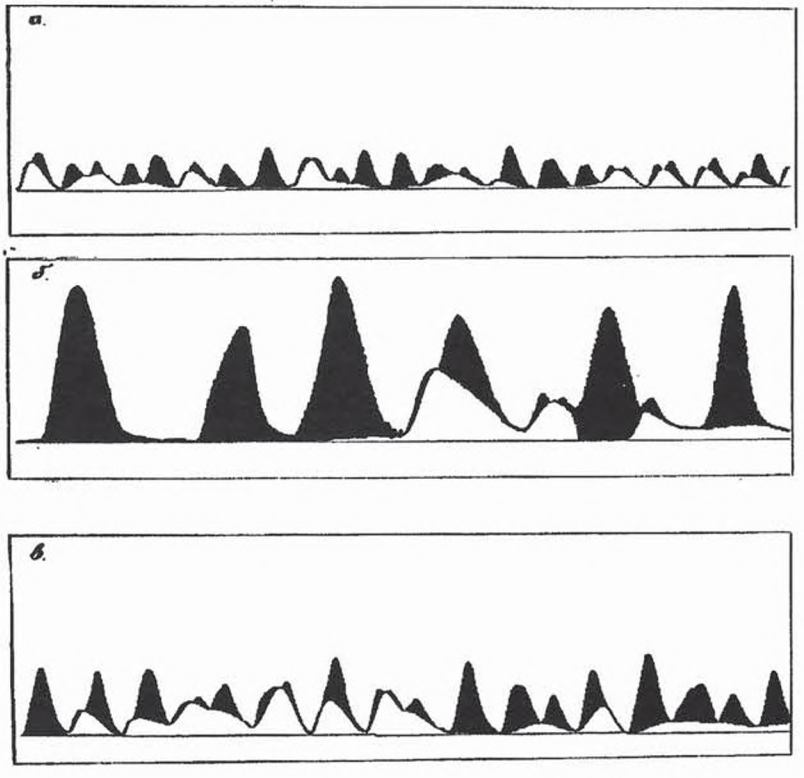

Рис. 2. Функциональная активность воротной вены крыс: а - с уремией II степени, б - с уремией, получавших фенибут по 2 мг на 200 г массы тела 2 мес, в - с уремией, получавших фенибут по 10 мг на 200 г массы тела 2 мес (оригинальная миограмма, машинная графика). Время записи - 1 мин.

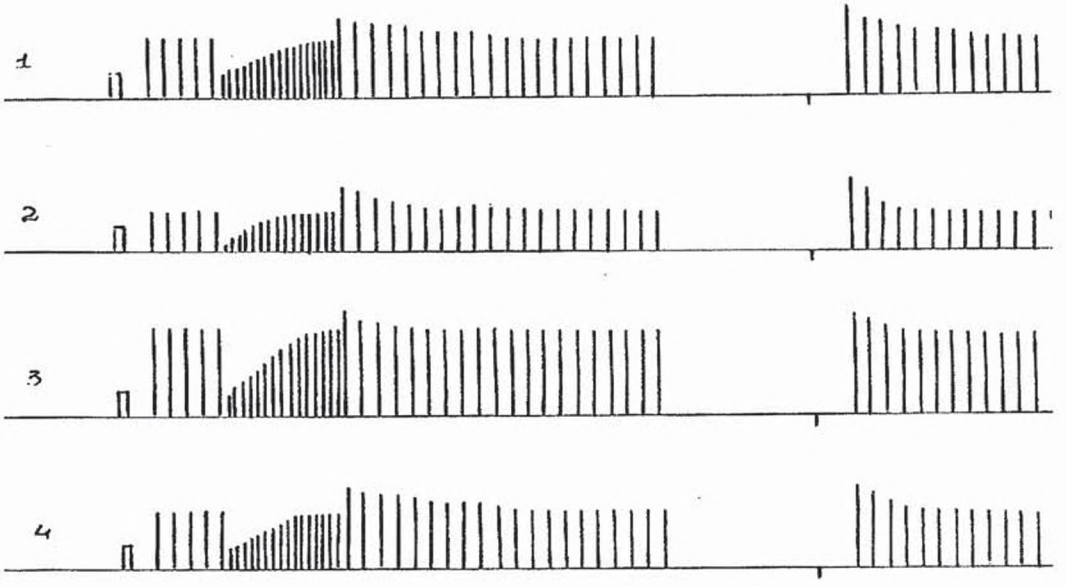

Рис. 3. Типы переходных процессов при изменении частоты стимуляции, постстимуляционная потенциация и потенциации покоем миокарда крыс: 1 - контрольных, 2 - получавших фенибут, 3 - крыс с ХПН, 4 - крыс с ХПН, получавших фенибут.

циалзависимых кальциевых каналов свидетельствует и снижение изометрических сокращений папиллярных мышц контрольных крыс и крыс с нефрэктомией, получавших фенибут. Можно полагать, что инактивация кальциевых каналов кардиомиоцитов и гладкомышечных клеток воротной вены обусловлена развивающейся под влиянием фенибута гиперполяризацией мембраны клеток.

Мы полагаем, что эффект фенибута был следствием частичного снижения входа кальция в ГМК сосудов, которые характеризуются в этот период ХПН ростом проницаемости клеточной мембраны и накоплением ионизированного кальция в цитозоле, приводящему к токсическому его действию.

Снижение амплитуды изометрических сокращений папиллярной мышцы контрольных крыс и крыс с нефрэктомией под влиянием фенибута, как и в опытах с ГМК сосудов, является следствием падения входа кальция, видимо, по потенциалзависимым кальциевым каналам. Однако во всех экспериментах с фенибутом отчетливо проявлялось стимулирующее действие последнего на ПСП и ПП. Учитывая, что наличие лестницы Боудича, ПСП и ПП в миокарде контрольных крыс и крыс с ХПН является показателем сохранности функции саркоплазматического ретикулума (СР), мы полагаем, что фенибут стимулирует кальцийпоглощающую и кальцийвыделительную функцию СР. Влияние фенибута на ритмоинотропные отношения изометрических сокращений папиллярных мышц контрольных крыс и крыс с ХПН свидетельствует об определяющем значении кальция саркоплазматического ретикулума в механизме его влияния на миокард.

Заключение

Подводя итог вышесказанному, мы полагаем, что фенибут оказывает регулирующее действие на проницаемость клеточных мембран гладкомышечных клеток и кардиомиоцитов по типу действия ГАМК на мембрану нейронов. Об этом свидетельствует подавление авторитмической сократительной активности и снижение амплитуды изометрических сокращений при активации кальцийвысвобождающей и кальцийпоглощающей функции саркоплазматического ретикулума.

ЛИТЕРАТУРА

1. Изаков В. Я., Бляхман О.А., Мих А.Д. Методы задания физиологического режима нагрузок в изолированных полосках миокарда (имитация сердечного цикла)// Физиол. журн. СССР.-1984.- Т.70, N 11.- С. 1581 - 1583.

2. Ковалев Г.В., Тюренков И.Н. Исследование зависимости между химической структурой и вазоактивными свойствами производных ГАМК// Фармакология и клиника гамма-аминомасляной кислоты и ее аналогов. Труды ВГМИ.- Волгоград, 1979.- С.26 -34.

3. Мехилане Л.С., Ряго Л.К., Алликметс Л.Х. Фармакология и клиника фенибута.- Тарту, 1990.- 187 с.

4. Тюренков И.Н. Сравнительная характеристика гемодинамических свойств аминалона, пирацетама, фенибута// Фармакология и клиника гамма-аминомасляной кислоты.- Волгоград., 1979.-С.116-120.

5. Шуба М.Ф., Кочемасова Н.Г. Физиология сосудистых гладких мышц.- Киев : Наукова думка, 1988.- 252 с.

6. Anderson S., Rennke H.G., Brenner B.M. Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresing progressive renal disease associated with hypertension in the rat.// J.Clin. Invest.-1986.-Vol.77.-P.19-93.

7. Stahl R.A., Thaiss F. Eicosanoids biosynthesin and function in the glomerulus. // Renal. Physiol. - 1987.- Vol.10.-P. 1-15.