

А. И. Матюшин, А. Н. Караченцев, С. А. Исаева, А. Ж. Мамбетова

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИНОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИПОФИЛЬНЫХ И ГИДРОФИЛЬНЫХ ФОРМ 17 β -ЭСТРАДИОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА

Российский государственный медицинский университет

На изолированном ушке предсердия крыс-самцов изучали изменение сократительных параметров под действием липофильных и гидрофильных форм 17 β -эстрадиола и прогестерона. Установлена более высокая кардиотропная активность гидрофильных форм женских половых стероидов по сравнению с липофильными аналогами. Липофильная форма 17 β -эстрадиола подавляет, а гидрофильная — усиливает сократительную функцию изолированного предсердия крысы. Для прогестерона отмечено угнетение сердечной сократительной активности независимо от использованной лекарственной формы.

Changes in the contractility under the effect of lipophilic and hydrophilic 17 β -estradiol and progesterone were studied on an isolated atrial auricula. The hydrophilic forms of female sex steroids possessed a higher cardiotropic activity than their lipophilic analogs. Lipophilic 17 β -estradiol suppressed, whereas the hydrophilic form boosted the contractile function of the isolated rat atrium. Progesterone depressed cardiac contractility, no matter which forms were used.

Анализ современной научной литературы свидетельствует о наличии кардиотропной и даже кардиопротекторной активности у женских половых гормонов [2, 7, 14]. Получены убедительные клинические и экспериментальные доказательства эффективности эстрогенных и эстроген-гестагенных препаратов при сердечно-сосудистых заболеваниях, главным образом в условиях дефицита половых гормонов у женщин (климактерий, посткастрационный синдром) [1, 2, 7, 14]. Следует отметить широкое практическое использование только липофильных форм женских половых стероидов, что ограничивает вследствие длительного латентного периода возможность их назначения при острых вариантах сердечной патологии (стенкардия, инфаркт миокарда, аритмии).

В то же время нельзя исключить зависимость кардиотропных эффектов стероидных гормонов от изменения (уменьшения) их липофильности. С этой точки зрения известный интерес представляет сравнительный анализ сердечной активности у липофильных (жирорастворимых) и гидрофильных (водорастворимых) форм эстрогенов и гестагенов.

В настоящем исследовании проведена оценка влияния некоторых жирорастворимых и водорастворимых форм 17 β -эстрадиола и прогестерона на сократительную (инотропную) активность изолированного предсердия крысы.

Материалы и методы

Исследование выполнено на изолированных участках ушка предсердия белых беспородных крыс-самцов массой 180—220 г. Экспериментальный материал выделяли после забоя предварительно наркотизированных (эфир для наркоза ингаляционно) животных и тотчас помещали в оксигенированный (95% O₂ + 5% CO₂) со стандартным рН (7,4 ± 0,1) раствор Кребса.

Полученные полоски (длиной 3—4 мм и шириной 1,5—2 мм) ушка предсердия помещали в рабочую камеру из плексигласа вместимостью 0,5 мл, через которую с постоянной скоростью циркулировал оксигенированный раствор Кребса, име-

ющий температуру 38 ± 0,5°C и рН 7,4 ± 0,1. Полоски ушка предсердия надевали на 2 крючка, один из которых был соединен с управляющим стержнем механотрона 6МХ1С, а другой неподвижно фиксирован к стенке камеры. Полоску ушка предсердия предварительно растягивали до 1/3 исходной длины, добиваясь при этом максимальных сокращений. Фрагменты миокарда раздражали поем с помощью электростимулятора ("Nihon Kohden") с двумя серебряными электродами, расположенными вдоль всей длины камеры. Длительность прямоугольных импульсов составляла 5 мс, амплитуда была в 1,5—2 раза выше пороговой, базовая частота следования — 0,5 Гц; сократительную активность миокарда изучали в режиме, близком к изометрическому.

Осуществляли автоматизированную обработку полученных результатов с помощью системы КАМАК фирмы "Schlumberger" (Франция).

Исследованный диапазон концентраций половых гормонов — 17 β -эстрадиол липофильный, прогестерон липофильный, 17 β -эстрадиол гидрофильный (β -estradiol-water soluble; balance 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin), прогестерон гидрофильный (progesterone-water soluble; balance 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin) — составил от 10⁻⁹ до 10⁻⁴ моль/л; все препараты фирмы "Sigma" (США). С целью анализа кардиотропной активности водорастворимого 17 β -эстрадиола использовали антагонист кальция изоптин (ЛЕК, Словения) в концентрации 2 · 10⁻⁶ моль/л и β -адреноблокатор пропранолол ("Sigma", США) в концентрации 10⁻⁶ моль/л. Для растворения липофильных половых стероидов применяли 20% этанол, для растворения гидрофильных половых стероидов — бидистиллированную воду. В контрольных наблюдениях концентрации этанола, аналогичные опытным, не вызывали достоверных изменений изучавшихся в работе параметров.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью оригинальных программ на IBM PC/AT. Ошибки средних значений рассчитывали с достоверностью $p \geq 0,95$ по t -критерию Стьюдента.

Изменение параметров одиночного сократительного ответа ушка предсердия крысы под влиянием 17 β -эстрадиола (в % от контроля; $M \pm m$)

Половой гормон	Концентрация, моль/л	Время воздействия, мин	Амплитуда сокращения	Скорость сокращения	Скорость расслабления	
17 β -эстрадиол липофильный	10^{-5}	5	100,1 \pm 3,1	100,0 \pm 2,1	100,0 \pm 1,9	
		10	99,5 \pm 3,4	99,8 \pm 0,9	100,0 \pm 1,5	
		15	96,2 \pm 2,2	97,0 \pm 1,2	99,9 \pm 2,5	
		20	92,0 \pm 1,5	95,5 \pm 3,2	99,5 \pm 3,5	
		30	88,5 \pm 3,0	90,7 \pm 3,1	92,4 \pm 3,2	
		45	83,2 \pm 1,2	85,0 \pm 1,3	88,9 \pm 2,5	
	10^{-4}	60	81,1 \pm 2,2	83,1 \pm 1,3	82,5 \pm 2,5	
		5	71,5 \pm 3,4	82,5 \pm 3,2	93,5 \pm 4,5	
		10	64,7 \pm 2,7	78,1 \pm 2,5	89,5 \pm 3,2	
		15	59,7 \pm 1,4	69,7 \pm 3,3	73,3 \pm 3,8	
		20	57,3 \pm 1,4	63,3 \pm 1,0	64,8 \pm 2,5	
		30	56,5 \pm 3,4	59,3 \pm 1,3	59,5 \pm 3,4	
	17 β -эстрадиол гидрофильный	10^{-6}	45	54,1 \pm 1,9	57,5 \pm 3,4	58,5 \pm 1,9
			60	47,2 \pm 2,7	48,3 \pm 1,6	51,3 \pm 4,2
			5	100,3 \pm 0,8	99,8 \pm 0,8	99,3 \pm 3,5
			10	99,8 \pm 1,9	99,8 \pm 1,9	99,5 \pm 1,1
			15	99,5 \pm 2,1	99,8 \pm 0,8	99,8 \pm 0,8
			20	99,7 \pm 2,8	99,7 \pm 1,0	99,6 \pm 1,3
10^{-5}		30	99,8 \pm 3,9	99,5 \pm 0,9	100,0 \pm 2,3	
		45	99,7 \pm 2,2	99,4 \pm 1,7	99,4 \pm 1,9	
		60	99,8 \pm 1,9	99,0 \pm 1,7	99,4 \pm 2,3	
		5	120,6 \pm 1,5	122,3 \pm 3,9	118,0 \pm 4,3	
		10	136,7 \pm 2,4	136,3 \pm 2,7	134,7 \pm 4,7	
		15	141,0 \pm 4,3	139,2 \pm 2,4	140,3 \pm 1,5	
		20	145,2 \pm 2,6	143,0 \pm 3,0	143,0 \pm 3,4	
		30	152,7 \pm 2,9	148,3 \pm 3,8	153,7 \pm 3,7	
		45	159,0 \pm 2,9	162,8 \pm 4,7	155,0 \pm 4,7	
		60	167,2 \pm 4,5	167,8 \pm 4,5	166,3 \pm 3,0	

Примечание. Здесь и в табл. 2 за 100% приняты параметры одиночного сократительного ответа до введения гормона в раствор Кребса, омывающий препарат ушка предсердия.

Таблица 2

Изменение параметров одиночного сократительного ответа ушка предсердия крысы под влиянием прогестерона (в % от контроля; $M \pm m$)

Половые гормоны	Концентрация, моль/л	Время воздействия, мин	Амплитуда сокращения	Скорость сокращения	Скорость расслабления	
Прогестерон липофильный	10^{-5}	5	100,2 \pm 0,6	100,1 \pm 0,5	100,2 \pm 0,5	
		10	100,1 \pm 0,8	99,9 \pm 0,5	100,1 \pm 0,6	
		15	100,1 \pm 0,8	99,4 \pm 0,9	99,3 \pm 0,9	
		20	99,9 \pm 0,9	99,3 \pm 2,0	99,1 \pm 1,2	
		30	98,6 \pm 2,1	98,7 \pm 1,5	99,1 \pm 1,3	
		45	98,3 \pm 1,2	98,1 \pm 1,6	98,6 \pm 0,9	
	10^{-4}	60	98,1 \pm 1,4	98,0 \pm 1,8	98,3 \pm 1,9	
		5	100,2 \pm 0,5	100,1 \pm 0,5	99,9 \pm 0,8	
		10	100,0 \pm 0,8	99,8 \pm 0,8	98,3 \pm 0,9	
		15	99,7 \pm 2,1	98,2 \pm 1,0	95,2 \pm 1,5	
		20	96,3 \pm 1,7	94,9 \pm 1,9	93,1 \pm 1,9	
		30	90,2 \pm 2,0	92,5 \pm 0,9	90,9 \pm 2,1	
	Прогестерон	10^{-6}	45	87,9 \pm 2,5	89,3 \pm 1,9	88,2 \pm 2,2
			60	84,3 \pm 2,6	87,3 \pm 2,0	87,2 \pm 2,3
			5	100,1 \pm 0,6	100,0 \pm 0,8	100,1 \pm 0,6
			10	100,0 \pm 0,5	100,0 \pm 0,7	100,1 \pm 1,0
			15	99,4 \pm 0,9	99,8 \pm 0,9	99,9 \pm 1,0
			20	95,9 \pm 1,6	97,6 \pm 2,0	98,4 \pm 0,9
10^{-5}		30	92,6 \pm 2,1	94,9 \pm 1,9	95,4 \pm 0,8	
		45	90,3 \pm 2,2	92,3 \pm 1,9	93,3 \pm 1,1	
		60	87,9 \pm 2,1	90,0 \pm 1,7	90,3 \pm 1,9	
		5	99,1 \pm 0,9	99,5 \pm 1,1	99,3 \pm 0,8	
		10	94,0 \pm 1,5	96,3 \pm 2,4	97,4 \pm 0,9	
		15	89,2 \pm 3,7	93,6 \pm 2,1	95,2 \pm 2,7	
		20	85,1 \pm 2,4	91,1 \pm 3,9	92,4 \pm 3,2	
		30	75,1 \pm 4,0	79,7 \pm 4,5	83,7 \pm 3,8	
		45	68,6 \pm 3,3	72,1 \pm 1,1	72,0 \pm 3,8	
		60	59,6 \pm 2,5	64,3 \pm 4,4	65,1 \pm 3,9	

Результаты и их обсуждение

Данные о влиянии исследованных женских половых гормонов на сократительную активность изолированного ушка предсердия крысы представлены в табл. 1 и 2. Следует отметить статистически достоверные изменения сердечных сократительных параметров при использовании липофильных форм 17β -эстрадиола или прогестерона, начиная с концентрации 10^{-5} моль/л, и гидрофильных форм 17β -эстрадиола или прогестерона, начиная с концентрации 10^{-6} моль/л.

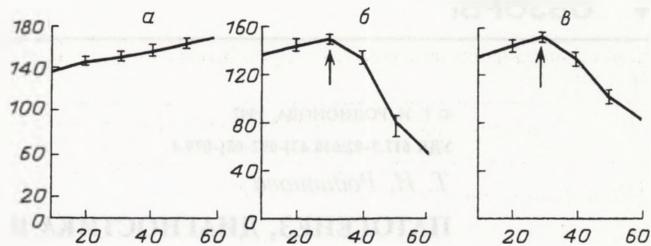
Нами выявлено угнетение сократительных параметров изолированного ушка предсердия при применении липофильной формы 17β -эстрадиола, хотя при действии его гидрофильной формы наблюдалась стимуляция сердечной сократительной активности (см. табл. 1). Для прогестерона независимо от использованной формы стероида — липофильной или гидрофильной — отмечены кардиодепрессорные ответы (см. табл. 2).

Анализ данных литературы свидетельствует о способности 17β -эстрадиола угнетать сократительную активность сердца *in vitro* [7, 9, 12, 13], хотя *in vivo* может проявляться его кардиостимулирующее действие [4, 7, 11]. В отличие от 17β -эстрадиола прогестерон ингибирует сократительную активность сердца [2, 9, 13], что согласуется с нашими наблюдениями.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что гидрофильные формы женских половых гормонов по сравнению с их липофильными аналогами проявляют иную кардиотропную активность *in vitro*. На наш взгляд, это может быть связано с изменением (повышением) роли мембранотропного компонента в механизме действия стероидов при повышении степени их гидрофильности по сравнению с цитозольной рецепцией, свойственной липофильным соединениям.

Возможность прямого действия водорастворимого 17β -эстрадиола на мембраны кардиомиоцитов сердца с последующим изменением их электрических свойств отмечена нами ранее [3]. Водорастворимые формы 17β -эстрадиола, помимо усиления сократительной активности *in vivo*, давали антиаритмический эффект, способствовали лучшей сохранности макроэргических фосфатов, ингибировали перекисное окисление липидов и стабилизировали мембраны лизосом в ткани сердца, оказывая тем самым кардиопротекторное действие [5, 6].

В механизме отрицательного инотропного эффекта 17β -эстрадиола обсуждается присутствие активности, тождественной антагонистам кальция типа изоптина [7–9, 12]; кроме того, выявлена способность изопротеренола устранять угнетение силы сердечных сокращений, вызванное 17β -эстрадиолом [13]. Установленный в настоящем исследовании положительный инотропный эффект водорастворимой флоры 17β -эстрадиола, вероятно, также обусловлен его влиянием на транспорт кальция через плазматическую мембрану сердечных клеток и β -адренорецепторные механизмы. В пользу данного предположения свидетельствует обнаруженное нами уменьшение положительного инотропного эффекта водорастворимого эстрадиола в присутствии и блокатора потенциалзависимых кальциевых каналов изоптина ($2 \cdot 10^{-6}$ моль/л), и β -адреноблокатора пропранолола (10^{-6} моль/л) (см. рисунок).



Изменение кардиотропной активности водорастворимого 17β -эстрадиола (а) под влиянием изоптина (б) и пропранолола (в).

По осям ординат — амплитуда сокращений ушка предсердия крысы (в % от контроля); по осям абсцисс — время действия препаратов (в мин). Концентрация препаратов в растворе Кребса: водорастворимый 17β -эстрадиол — 10^{-5} М; изоптин — $2 \cdot 10^{-6}$ М; пропранолол — 10^{-6} М. Стрелкой отмечен момент введения препарата.

По нашему мнению, дальнейший детальный анализ кардиотропной активности водорастворимых форм эстрогенов и гестагенов с учетом применения различных компонентов, повышающих гидрофильность стероидов, может дать ответ о перспективах их использования при заболеваниях, сопровождающихся острыми сердечно-сосудистыми расстройствами. Следует проводить тестирование различных лекарственных форм женских половых стероидов не только на гормональную активность, но и на кардиотропность.

Выводы

1. Липофильные и гидрофильные формы 17β -эстрадиола и прогестерона обладают неодинаковой кардиотропной активностью *in vitro*: более выраженное изменение сердечных сократительных параметров установлено под действием гидрофильных форм женских половых стероидов по сравнению с липофильными аналогами.

2. Липофильная форма 17β -эстрадиола подавляет, а гидрофильная — усиливает сократительную функцию изолированного предсердия крысы. Для прогестерона отмечено угнетение сердечной сократительной активности независимо от использованной лекарственной формы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грацианский Н. А. // Клин. фармакол. и тер. — 1994. — № 3. — С. 30–39.
2. Караченцев А. Н., Сергеев П. В., Матюшин А. И. // Пробл. эндокринол. — 1996. — № 2. — С. 42–45.
3. Кобрин В. И., Маноах М., Гольдберг Г. и др. // Бюл. exper. биол. — 1996. — № 4. — С. 370–373.
4. Матюшин А. И., Левандовский И. В. // Экспер. и клин. фармакол. — 1994. — № 6. — С. 29–31.
5. Матюшин А. И. Влияние стероидных гормонов и их водорастворимых аналогов на сердечно-сосудистую систему: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1995.
6. Матюшин А. И., Петренко Ю. М., Попова Е. В. // Бюл. exper. биол. — 1995. — № 1. — С. 51–53.
7. Сергеев П. В., Караченцев А. Н., Матюшин А. И. // Кардиология. — 1996. — № 3. — С. 75–78.
8. Collins P., Rosano G. M. C., Jiang C. et al. // Lancet. — 1993. — Vol. 341, N 8855. — P. 1264–1264.
9. Jiang C., Poole-Wilson Ph. A., Sarrel Ph. M. et al. // Brit. J. Pharmacol. — 1992. — Vol. 106, N 3. — P. 739–745.
10. Labella F. S., Templeton J. E., Sashi Kumar V. P., Bose D. // Trends Pharmacol. Sci. — 1989. — Vol. 10, N 1. — P. 11–14.
11. Magness R. R., Rosenfeld C. R. // Amer. J. Physiol. — 1989. — Vol. 256, N 4. — Pt 1. — P. E536–E542.
12. Raddino R., Manca C., Poli E. et al. // Arch. int. Pharmacodyn. — 1986. — Vol. 281. — P. 57–65.
13. Raddino R., Ferrari A., Pela G. et al. // Cardiologia. — 1987. — Vol. 32, N 3. — P. 287–291.
14. Sex Steroids and the Cardiovascular System / Eds P. Ramwell, G. Rubanyi, E. Schillinger. — Berlin, 1992.

Поступила 27.02.97