

УДК 612.172.1:(615.217.24+615.224):616-092.9

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА КОРОНАРОРАСШИРЯЮЩЕГО ЭФФЕКТА КАРВЕДИЛОЛА В ИЗОЛИРОВАННОМ СЕРДЦЕ МОРСКОЙ СВИНКИ

В.И. КОЗЛОВСКИЙ¹ к.м.н., С. ХЛОПИЦКИЙ² проф., д.м.н.,
Р.Е. ГРЫГЛЕВСКИЙ² проф., д.м.н.

1 – УО «Гродненский государственный медицинский университет»

2 – Ягеллонский университет, г. Краков, Польша

Целью настоящей работы было изучить участие эндотелиальных сосудорасширяющих факторов (оксида азота и простаглицина), а также различных подтипов адренорецепторов в механизме коронарорасширяющего эффекта карведилола в изолированном сердце морской свинки. Установлено, что карведилол увеличивал коронарный поток в изолированном сердце морской свинки. Данный эффект существенно ослаблялся в присутствии неселективного ингибитора синтазы оксида азота L-NAME (10^{-4} M) и не изменялся на фоне применения ингибитора циклооксигеназы индометацина ($5 \cdot 10^{-6}$ M), антагониста бета-1/бета-2 адренорецепторов надолола (10^{-5} M) и антагониста альфа-1/альфа-2 адренорецепторов фентоламина (10^{-5} M). Таким образом, карведилол в изолированном сердце морской свинки вызывает расширение коронарных сосудов, опосредованное оксидом азота эндотелиального происхождения и не зависящее от высвобождения простаглицина, а также от взаимодействия с каким-либо из подтипов адренорецепторов.

Ключевые слова: карведилол, изолированное сердце морской свинки, коронарное кровообращение, оксид азота, адренорецепторы.

The aim of this work was to study contribution of endothelium derived factors (nitric oxide and prostacycline) as well as different adrenoreceptor subtypes in the mechanism of coronary dilation induced by carvedilol in isolated guinea pig heart. We found that carvedilol increased coronary flow in isolated guinea pig heart. This effect was significantly reduced in the presence of nitric oxide synthase inhibitor L-NAME (10^{-4} M) and did not change in the presence of cyclooxygenase inhibitor indomethacin ($5 \cdot 10^{-6}$ M), beta-1/beta-2 adrenoreceptor antagonist nadolol (10^{-5} M) and alfa-1/alfa-2 adrenoreceptor antagonist phentolamine (10^{-5} M). So, in isolated guinea pig heart carvedilol induce coronary vasodilation, which is mediated by endothelium-derived nitric oxide and does not depend on release of prostacyclin as well as on interaction with any subtype of adrenoreceptors.

Key words: carvedilol, isolated guinea pig heart, coronary circulation, nitric oxide, adrenoreceptors.

Введение

Среди бета-адренергических антагонистов в последнее время большой интерес привлекает карведилол. Это антагонист третьей генерации, обладающий периферическим сосудорасширяющим действием. Основным механизмом этого действия считается блокада альфа-адренорецепторов [8, 17]. Известно также, что данный препарат обладает антиоксидантными свойствами [12, 19]. В последние годы обнаружено, что карведилол превосходит другие бета-адренергические антагонисты в лечении застойной хронической сердечной недостаточности [14], однако пока нет четкого объяснения преимущества карведилола в лечении данного состояния. Одна из возможных гипотез связана с антиоксидантным эффектом препарата [10, 13].

В свете упомянутого выше эффекта карведилола при застойной хронической сердечной недостаточности, особый интерес привлекает влияние препарата на коронарное русло. В связи с этим целью

нашего исследования было: 1) оценить наличие прямого сосудорасширяющего эффекта карведилола на изолированном сердце морской свинки; 2) исследовать возможные механизмы данного эффекта, в частности, участие сосудорасширяющих факторов эндотелиального происхождения (оксида азота и простаглицина), а также возможной роли взаимодействия с различными подтипами адренорецепторов.

Материалы и методы

Модель изолированного сердца морской свинки (метод Лангендорфа). Морских свинок обоих полов, массой тела 300-400 г, наркотизировали пентобарбиталом (30-40 мг/кг массы тела). После вскрытия грудной клетки сердца изолировались, промывались в холодном физиологическом растворе, затем коронарное русло перфузировали ретроградно через аорту под постоянным перфузионным давлением 60 мм рт. ст. с использованием аппарата Лангендорфа (Hugo Sachs Electronics) раствором Кребса – Ханзелайта следующего состава:

ва (mM): NaCl – 118, CaCl₂ – 2,52, MgSO₄ – 1,64, NaHCO₃ – 24,88, KH₂PO₄ – 1,18, глюкоза – 5,55, натрия пируват – 2,0. Перфузионный раствор оксигенировали смесью 95% O₂ + 5% CO₂ при 37°C. Сердца стимулировали с частотой 273 импульса в минуту двумя платиновыми электродами, введёнными в правое предсердие. Объём жидкости, протекавший в единицу времени, соответствовал величине коронарного потока. Коронарный поток измеряли с помощью ультразвукового датчика (Hugo Sachs Electronics). Давление в левом желудочке измеряли с помощью резинового шарика, наполненного жидкостью, введённого в левый желудочек и соединённого с датчиком давления (Hugo Sachs Electronics). С помощью аналогового дифференцирующего усилителя (Hugo Sachs Electronics) рассчитывали максимальную скорость изменения давления в левом желудочке (dp/dt_{max}), по которой оценивали сократимость миокарда. Величины коронарного потока и dp/dt_{max} записывали в течение всего эксперимента, а затем анализировали с помощью специальной программы (PSCF – IGEL, Польша). Детали метода описаны ранее [11].

Протокол экспериментов. Для изучения влияния карведилола на коронарный поток изолированного сердца морской свинки препарат вводили путём внутрикоронарной инфузии до получения концентраций в диапазоне 10^{-6} – $3 \cdot 10^{-5}$ М. Для оценки роли оксида азота и простаглицина в механизме сосудорасширяющего действия эффект карведилола регистрировали повторно в присутствии ингибитора синтазы оксида азота (NO-синтазы) метилового эфира L-N^G-нитроаргинина (L-NAME, 10^{-4} М) или ингибитора циклооксигеназы индометацина ($5 \cdot 10^{-5}$ М). Для исследования возможной роли взаимодействия с альфа- и бета-адренорецепторами карведилол вводили в присутствии неселективного ингибитора альфа-адренорецепторов фентоламина (10^{-5} М) или неселективного антагониста бета-адренорецепторов надолола (10^{-5} М). В контрольных опытах (без использования фармакологических антагонистов) эффект карведилола был повторяем и существенно не изменялся в течение эксперимента. В качестве препарата сравнения использовали антагонист альфа- и бета-адренорецепторов лабеталол.

Карведилол растворяли в смеси диметилсульфоксида и воды (1 : 1). Данная смесь при введении со скоростью, аналогичной скорости подачи исследуемых растворов, вызывала незначительное увеличение коронарного потока в изолированном сердце морской свинки ($0,63 \pm 0,13$ мл/мин). Величина эффекта растворителя в каждом эксперименте вычиталась из показателя увеличения коронарного потока, вызываемого карведилолом.

Результаты и их обсуждение

Базальный уровень коронарного потока в изолированном сердце морской свинки составлял в наших экспериментах $10,71 \pm 0,57$ мл/мин. Карведилол в концентрациях 10^{-6} М – $3 \cdot 10^{-5}$ М вызывал дозозависимое увеличение коронарного потока (от $0,55 \pm 0,5$ мл/мин в концентрации 10^{-6} М до $7,03 \pm 1,62$ мл/мин в концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ М). Данный эффект карведилола (за исключением концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ М) значительно уменьшался в присутствии L-NAME (10^{-4} М, рис. 1). Другой антагонист альфа- и бета-адренорецепторов лабеталол не вызывал увеличения коронарного потока в изолированном сердце морской свинки, а, напротив, незначительно снижал его.

Коронарорасширяющий эффект карведилола в изолированном сердце морской свинки не изменялся в присутствии ингибитора циклооксигеназы индометацина (рис. 2), антагониста бета-1 и бета-2 адренорецепторов надолола (рис. 3) и антагониста альфа-1 и альфа-2 адренорецепторов фентоламина (рис. 4).

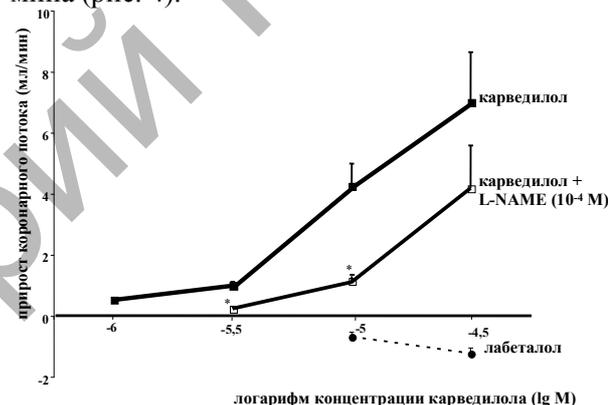


Рис. 1. Коронарорасширяющий эффект карведилола в изолированном сердце морской свинки и его зависимость от оксида азота. Результаты представлены как средняя величина \pm стандартная ошибка ($n = 3-5$).

Примечание: * - статистически достоверное различие в сравнении с контролем ($p < 0,05$)

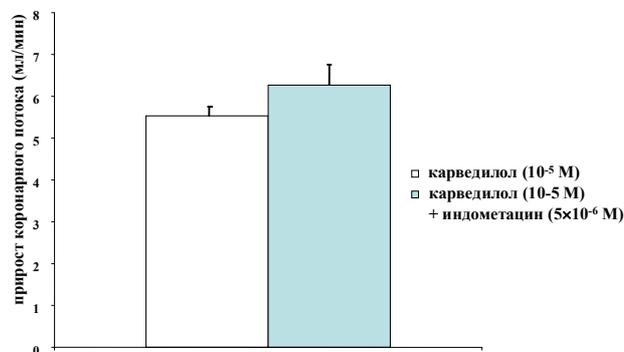


Рис. 2. Коронарорасширяющий эффект карведилола не зависит от простаглицина.

Результаты представлены как средняя величина \pm стандартная ошибка ($n = 3$).

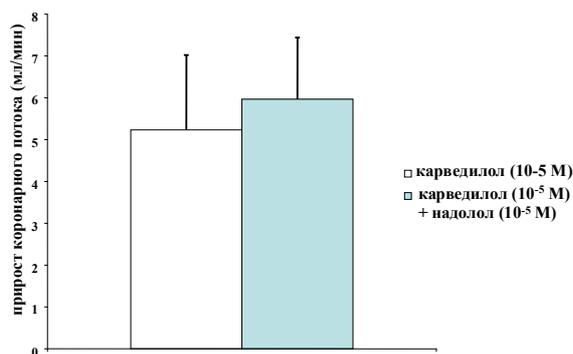


Рис. 3. Коронарорасширяющий эффект карведилола не зависит от взаимодействия с бета-1/бета-2 адренорецепторами. Результаты представлены как средняя величина \pm стандартная ошибка ($n = 3$).

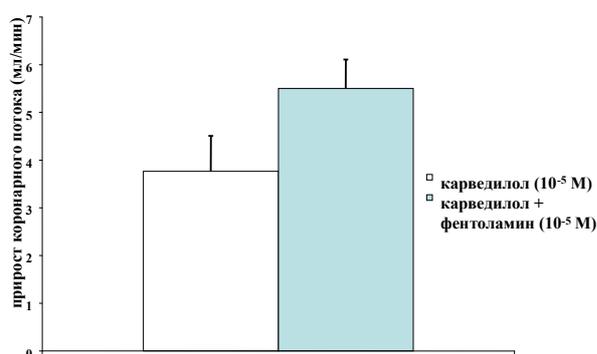


Рис. 4. Коронарорасширяющий эффект карведилола не зависит от взаимодействия с альфа-1/альфа-2 адренорецепторами. Результаты представлены как средняя величина \pm стандартная ошибка ($n = 3$).

Таким образом, мы установили, что карведилол обладает прямым коронарорасширяющим эффектом на модели изолированного сердца морской свинки, причём данный эффект опосредован оксидом азота эндотелиального происхождения. Лишь при высоких концентрациях карведилола ($3 \cdot 10^{-5}$ M) в механизме его сосудорасширяющего эффекта начинает преобладать независимый от оксида азота компонент (механизм его нами не установлен), однако данные концентрации значительно превышают концентрации препарата, используемые в клинике. В одном из исследований карведилол, в отличие от других бета-адренергических антагонистов пропранолола, целипролола и бопиндола, вызывал увеличение коронарного кровотока у крыс *in vivo* [16], однако механизм этого эффекта установлен не был. Другой известный эндотелиальный сосудорасширяющий фактор – простациклин, как следует из наших экспериментов, не имеет существенного значения в механизме сосудорасширяющего действия карведилола на модели изолированного сердца морской свинки.

Отдельные авторы сообщают о том, что карведилол улучшает эндотелиальную функцию у больных хронической сердечной недостаточностью [1,

2]. Обнаруженная нами способность карведилола стимулировать продукцию эндотелиального оксида азота может быть одним из объяснений данного эффекта препарата. В последнее время обнаружено, что нарушение функции эндотелия неблагоприятно влияет на прогноз больных хронической сердечной недостаточностью [6], поэтому стимулирующее влияние карведилола на продукцию эндотелиального оксида азота в коронарных сосудах может объяснять его преимущество перед другими бета-адренергическими антагонистами в лечении данного патологического состояния.

Известно, что относительно небольшие количества оксида азота, продуцируемые эндотелиальной синтазой оксида азота, благоприятно влияют на сокращение и, в особенности, расслабление сердца в фазу диастолы [4]. Обнаружено, что у мышей с повышенной экспрессией эндотелиальной синтазы оксида азота значительно слабее выражены проявления сердечной недостаточности, вызванной окклюзией коронарных артерий [9]. Таким образом, стимуляция эндотелиальной синтазы оксида азота карведилолом может способствовать благоприятному эффекту препарата при хронической сердечной недостаточности.

Лабеталол, который, подобно карведилолу, сочетает в себе свойства антагониста бета- и альфа-адренорецепторов, не вызвал увеличения коронарного потока в изолированном сердце морской свинки. Поэтому мы можем заключить, что коронарорасширяющие свойства карведилола не связаны с его свойствами антагониста альфа-адренорецепторов.

Один из вероятных механизмов NO-зависимого сосудорасширяющего действия бета-адренергических антагонистов – возбуждение какого-либо из подтипов бета-адренорецепторов. Известно, что в коронарных сосудах преобладают бета-1 адренорецепторы, при возбуждении которых развивается сосудорасширяющий эффект [7]. Однако в наших экспериментах антагонист бета-1/бета-2 адренорецепторов надолол не влиял на коронарорасширяющий эффект карведилола в изолированном сердце морской свинки, что исключает участие этих подтипов адренорецепторов в механизме влияния карведилола на эндотелий коронарных сосудов.

В последнее время установлено, что в эндотелии некоторых сосудов имеются бета-3 адренорецепторы, возбуждение которых вызывает расширение сосудов, опосредованное оксидом азота [15, 18]. Тем не менее в одном из наших недавних исследований мы не обнаружили в коронарных сосудах изолированного сердца морской свинки эффектов, связанных с возбуждением этого подтипа бета-адренорецепторов [11]. В связи с этим учас-

тие бета-3 адренорецепторов в механизме эндотелий-зависимого коронарорасширяющего эффекта карведилола представляется сомнительным.

Ещё один подтип адренорецепторов, обнаруженный в эндотелии ряда сосудов, в том числе в коронарных артериях свиньи, – альфа-2 адренорецепторы. Возбуждение этих рецепторов может вызывать сосудорасширяющий эффект, зависящий от эндотелиального оксида азота [5]. В наших экспериментах сосудорасширяющий эффект карведилола не уменьшался в присутствии антагонист альфа-1/альфа-2 адренорецепторов фентоламина. Кроме того, в одной из наших недавних работ мы наблюдали, что возбуждение альфа-2 адренорецепторов клонидином вызывает сужение, а не расширение коронарных сосудов [3]. В связи с этим мы можем исключить взаимодействие с этими рецепторами как возможный механизм влияния карведилола на систему L-аргинин – оксид азота в эндотелии коронарных сосудов изолированного сердца морской свинки.

Таким образом, мы установили, что карведилол обладает прямым коронарорасширяющим эффектом на модели изолированного сердца морской свинки. Данный эффект не зависит от альфа-адреноблокирующих свойств препарата. Механизм прямого коронарорасширяющего влияния карведилола связан с активацией системы L-аргинин – оксида азота в эндотелии коронарных сосудов.

Выводы

1. Карведилол в изолированном сердце морской свинки обладает прямым коронарорасширяющим эффектом.

2. Данный эффект карведилола опосредован эндотелиальным оксидом азота и не связан с влиянием его на синтез простаглицлина или адренорецепторы.

Литература

1. Алмазов В.А., Ситникова М.Ю., Иванов С.Г. и др. Карведилол в лечении больных хронической сердечной недостаточностью: клинические и метаболические эффекты // Сердечная недостаточность. – 2001. – Т. 2, № 2. – С. 68 – 70.
2. Ситникова М. Ю., Шляхто Е. В. Эндотелиальная протекция у больных с выраженной сердечной недостаточностью на фоне длительной терапии карведилолом // Клиническая медицина. – 2003. – Т. 81, № 7. – С. 44 – 47.
3. Chlopicki S., Kozlovski V.I., Gryglewski R.J. Clonidine-induced coronary vasodilatation in isolated guinea pig heart is not mediated by endothelial alpha-2 adrenoceptors // Journal of physiology and pharmacology. – 2003. - Vol. 54, N 4. – P. 511 – 521.
4. Cotton J.M., Kearney M.T., Shah A.M. Nitric oxide and myocardial function in heart failure: friend or foe? // Heart. – 2002. – Vol. 88. – P. 564 – 566.
5. Figueroa X.F., Poblete M.I., Boric M.P. et al. Clonidine-induced nitric oxide-dependent vasorelaxation mediated by endothelial alpha(2)-adrenoceptor activation // Br. J. Pharmacol. – 2001. – Vol. 134. – P. 957 - 968.
6. Fischer D., Rossa S., Landmesser U. et al. Endothelial dysfunction in

- patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death // Eur. Heart J. – 2005. – Vol. 26, N1. – P. 65 - 69.
7. Guimaraes S, Moura D. Vascular adrenoceptors: an update // Pharmacol Rev 2001. – Vol. 53. – P. 319 - 356.
 8. Hashimoto H., Tanaka M., Kanda A., Akashi A. Analysis of the mechanism underlying the vasodilator action of carvedilol in pithed spontaneously hypertensive rats // Drugs. – 1988. - Vol. 36, Suppl 6. – P. 31 – 36.
 9. Jones S.P., Greer J.J., van Haperen R. et al. Endothelial nitric oxide synthase overexpression attenuates congestive heart failure in mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, N 8. – P. 4891 - 4896.
 10. Kawai K., Qin F., Shite J. et al. Importance of antioxidant and antiapoptotic effects of beta-receptor blockers in heart failure therapy // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2004. – Vol. 287, N 3. – P. 1003 -1012.
 11. Kozlovski V.I., Chlopicki S., Gryglewski R.J., Effects of two beta-3 agonists, CGP 12177A and BRL 37344, on coronary flow and contractility in isolated guinea pig heart // Journal of Cardiovascular Pharmacology. – 2003. – Vol. 41, N 5. – P. 706-713.
 12. Lysko P.G., Webb C.L., Gu J.L. et al. A comparison of carvedilol and metoprolol antioxidant activities in vitro // J Cardiovasc Pharmacol. – 2000. - Vol. 36, N 2.- P. 277 -281.
 13. Metra M., Cas L.D., di Lenarda A., Poole-Wilson P. Beta-blockers in heart failure: are pharmacological differences clinically important? // Heart Fail Rev. – 2004. – Vol. 9, N 2. – P. 123 - 130.
 14. Poole-Wilson P.A., Swedberg K., Cleland J.G. et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial // Lancet. – 2003. – Vol. 362. – P. 7-13.
 15. Shen Y.T., Zhang H., Vatner S.F. Peripheral vascular effects of beta-3 adrenergic receptor stimulation in conscious dogs // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1994. – Vol. 268, N 1. – P. 466 - 473.
 16. Takahashi H., Masaki H., Komiyama Y. et al. Effect of vasodilatory beta-adrenoceptor blockers on cardiovascular haemodynamics in anaesthetized rats // Clin Exp Pharmacol Physiol. – 2002. – Vol. 29, N 3. – P. 198 - 203.
 17. Tomlinson B., Bompert F., Graham B.R. et al. Vasodilating mechanism and response to physiological pressor stimuli of acute doses of carvedilol compared with labetalol, propranolol and hydralazine // Drugs. – 1988. – Vol. 36, Suppl. 6. – P. 37 – 47.
 18. Trochu J.N., Leblais V., Rautureau Y. et al. Beta-3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. // Br. J. Pharmacol. – 1999. – Vol. 128. – P. 69-76.
 19. Yue T.L., Cheng H.Y., Lysko P.G. et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1992. – Vol. 263, N 1. – P. 92 - 98.

Resume

INVESTIGATION OF THE MECHANISM OF CORONARY DILATION INDUCED BY CARVEDILOL IN ISOLATED GUINEA PIG HEART

B.I. Koslovsky¹ Ph.D., prof. S. Hlopitzky² M.D.,
prof. R. Ye. Gryglevsky² M.D.

1 – Grodno State Medical University

2 – Jagellonsky University, Krakow, Poland

In isolated guinea pig heart carvedilol induces direct coronary vasodilator effect, which depends on endothelial nitric oxide and is not mediated via prostacyclin as well as any type of adrenoceptors.