

СПОСОБНОСТЬ ГИСТИДИНА, ТРИПТОФАНА, ТИРОЗИНА, ТРИМЕТАЗИДИНА, МИЛДРОНАТА И СЫВОРОТКИ КРОВИ УМЕНЬШАТЬ β -АДРЕНОБЛОКИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ОЗОНА

Сизова Е.Н., Циркин В.И., Туманова Т.В., Костяев А.А.

Вятский социально-экономический институт, Кировская государственная медицинская академия, Вятский государственный гуманитарный университет, Кировский НИИ гематологии и переливания крови

Гистидин (3×10^{-6} г/мл), триптофан (10^{-6} г/мл), тирозин (2×10^{-6} г/мл), триметазидин (10^{-6} г/мл), милдронат (10^{-5} г/мл) и сыворотка крови (1:100) небеременных женщин (как источник эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов) повышали исходную и восстанавливали сниженную озонированным раствором Кребса (5×10^{-8} г озона /мл) β -адренореактивность продольных полосок ($n=197$) рога матки небеременных крыс ($n=28$). Это указывает на перспективность применения аналогов эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов для профилактики и купирования осложнений, которые могут возникать при озонотерапии или в озонопасных производствах, и на необходимость учета содержания в крови эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов при проведении профессионального отбора и прогнозирования безопасности озонотерапии.

Ранее было установлено наличие в крови, моче, ликворе, околоплодных водах и слюне человека эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов, существенно (и быстро) повышающего β -адренореактивность гладких мышц коронарной артерии свиньи [7,9,10,12], трахеи коровы [10] и матки крысы [10,11,13]. Подобный эффект в отношении гладких мышц данных образований оказывают гистидин, триптофан и тирозин [5,10], которые рассматриваются в качестве основных компонентов этого фактора [5,10], а также метаболитические препараты кардиологической направленности - триметазидин и милдронат [7,9,14]. В связи с внедрением озонотерапии [1,2,3,4,16] и отсутствием сведений о влиянии озона на свойства гладких мышц нами [8] было исследовано его влияние на сократительную активность и β -адренореактивность различных объектов и установлено, что озон (5×10^{-7} г/мл) повышает сократительную активность гладких мышц матки крысы, а также базальный и вызванный тонус гладких мышц коронарной артерии свиньи, но не влияет на тонус гладких мышц трахеи коровы, однако на всех этих объектах (особенно на первых двух) озон снижает β -адренореактивность. Это означает, что озонотерапия, озонопасные работы или проживание в мегаполисах может приводить к нежелательным эффектам (за счет снижения β -адренореактивности миоцитов). Поэтому было высказано предположение [8] о возможности использовать β -адреносенсibilизаторы прямого действия (гистидин, триптофан, тирозин, милдронат, пре-

дуктал) для профилактики и купирования негативных эффектов озона, а также о необходимости учета индивидуальной реакции человека на озон в зависимости от содержания в крови эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов, которое, как известно [10], зависит от пола, возраста и этапа репродуктивного процесса. В связи с этим целью работы явилось изучение способности сыворотки крови человека как источника эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов и его аналогов (гистидина, тирозина, триптофана, предуктала и милдроната) противодействовать β -адреноблокирующему влиянию озона на интактные и деполаризованные гиперкалиевым (60 мМ КСl) раствором Кребса продольные полоски рога матки небеременных крыс.

Методика исследований

Опыты проведены на 197 продольных полосках (длиной 6-8 мм и шириной 2-3 мм) рога матки 28 крыс (фаза метаэструса или диэструса). Регистрацию сократительной активности полосок и оценку их β -адренореактивности проводили по [11] на «Миоцитографе» при 38°C, пассивной аэрации раствора Кребса, при перфузии 0,7 мл/мин и исходной нагрузке 4,9 мН. Выполнено 12 серий: в сериях 1 и 2 использовали спонтанно активные полоски, а в сериях 3-12 – полоски с вызванной гиперкалиевым (60 мМ КСl) раствором Кребса тонической активностью. Стандартный раствор Кребса (рН-7,4), содержал (в мМ) NaCl-136, КСl-4,7, CaCl₂-2,52, MgCl₂-1,2, КН₂РO₄-0,6, NaHCO₃-4,7, C₆H₁₂O₆-11. На его основе готовили озонированный раствор

Кребса. Для этого стандартный раствор Кребса в течение 20 минут барботировали озонкислородной смесью (ее получали на озонаторе типа «Озон-М-50») при концентрации озона 5×10^{-3} г/л. По расчетам [2], концентрация озона в таком растворе на протяжении 1-3 часа удерживается на уровне 5×10^{-7} г/мл. Этот раствор разводили стандартным раствором Кребса в 10 раз; в нем концентрация озона достигала 5×10^{-8} г/мл, т.е. близкой к терапевтической [2,3,16]. В работе использовали триметазидин (Франция), милдронат (Латвия), гистидин и триптофан (Венгрия), тирозин и адреналина гидрохлорид (Россия). В качестве источника эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов применяли 100-кратно разведенную (стандартным раствором Кребса) сыворотку венозной крови 6 небеременных женщин (фолликулярная фаза). Различия между показателями оценивали по критерию Стьюдента, считая их достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В сериях 1 и 2 в опытах со спонтанно активными полосками изучали влияние гистидина (3×10^{-6} г/мл) и триметазида (10^{-6} г/мл) на β -адреноблокирующий эффект озонированного раствора Кребса (далее – озон), при его концентрации 5×10^{-8} г/мл. Для этого (рис. 1) проводили 4-кратное (по 10 мин.) тестирование адреналином (10^{-8} г/мл): до озона, на фоне озона, на фоне озона и гистидина (триметазида) и после их удаления. При этом озон воздействовал 30 минут: с 11-й по 20-ю минуту – совместно с адреналином, а с 21-й по 30-ю минуту – совместно с адреналином и исследуемым веществом. Установлено (рис. 1, панели а, б), что озон не влиял на сократимость полосок, но достоверно снижал их β -адренореактивность, а гистидин и триметазидин восстанавливали ее. Так, в серии 1

суммарная сократительная активность при 1-м тестировании адреналином составила $76,9 \pm 10,4\%*$ от исходного уровня (*- изменения носят достоверный характер, $p < 0,05$), на фоне озона – $110 \pm 14,8\%$, при 2-м тестировании адреналином (т.е. адреналин + озон) – $85,9 \pm 13,2\%$, при 3-м (адреналин + озон + гистидин) – $61,5 \pm 8,47\%*$, а при 4-м (адреналин) – $66,7 \pm 9,8\%*$; близкие значения получены в серии 2, т.е. с триметазидином – соответственно $73,1 \pm 11,4\%*$, $122 \pm 16,8\%$, $94,4 \pm 13,9\%$, $81,1 \pm 9,20\%$ и $79,1 \pm 10,4\%$.

В сериях 3-6 исследовали влияние гистидина (3×10^{-6} г/мл), триметазида (10^{-6} г/мл), сыворотки (1:100) крови и озона (5×10^{-8} г/мл) на β -адренореактивность полосок матки в условиях тонической активности, вызванной гиперкалиевым (60 мМ КСl) раствором Кребса. На ее фоне проводили три (по 10 минут) тестирования адреналином (10^{-8} г/мл): до, во время и после воздействия исследуемого фактора. Установлено (табл.1, рис.2, а-е) что адреналин при 1-м тестировании достоверно снижал калиевую контрактуру, гистидин незначительно снижал ее (рис.2, а), а триметазидин, сыворотка крови и озон не изменяли ее. При 2-м тестировании, т.е. на фоне гистидина (рис.2, а), триметазида (рис.2 б) и сыворотки крови (рис.2, в) релаксирующий эффект адреналина достоверно увеличился, а на фоне озона, наоборот, уменьшился (рис.2, г, д, е). При 3-м тестировании релаксирующий эффект адреналина восстанавливался до исходного уровня. Следовательно, β -адренореактивность деполяризованных миоцитов матки крысы под влиянием гистидина, триметазида и эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов существенно возрастает, а под влиянием озона снижается.

Таблица 1. Влияние различных факторов на β -адренореактивность продольных полосок рога матки небеременных крыс, деполяризованных гиперкалиевым (60 мМ КСl) раствором Кребса, в % к фоновому уровню.

Фактор	Этапы эксперимента			
	2	4	5	7
	КСl+адреналин, 10^{-8} г/мл	КСl+исследуемый фактор	КСl+исследуемый фактор+адреналин	КСl+адреналин 10^{-8} г/мл
Гистидин, (3×10^{-6} г/мл, n=12)	$88,0 \pm 6,61$	$84,0 \pm 4,89*$	$40,0 \pm 8,56^{*a}$	$92,0 \pm 4,58^c$
Триметазидин, (10^{-6} г/мл, n=9)	$62,1 \pm 4,57*$	$92,1 \pm 3,34$	$32,8 \pm 5,4^{*a}$	$77 \pm 8,1^*^c$
Сыворотка крови (1:100, n=10)	$91 \pm 5,6$	$89 \pm 7,6$	$45 \pm 6,2^{*a}$	$95 \pm 8,3^c$
Озонированный раствор Кребса, (5×10^{-8} г/мл, n=54)	$66,6 \pm 8,21*$	$105 \pm 7,54$	$101 \pm 9,81^a$	$67,4 \pm 4,63^*^c$

Примечание: * - различия с исходным уровнем достоверны, ($p < 0,05$); ^a, ^c – означают достоверность различий ($p < 0,05$) между значениями 2-го и 5-го (^a), 5-го и 7-го (^c).

Таблица.2. Влияние различных сенсibilизаторов β -адренорецепторов на β -адренореактивность продольных полосок рога матки небеременных крыс, сниженную озонированным раствором Кребса 5×10^{-8} г/мл в условиях калиевой (60 мМ КСl) контрактуры, в % к фоновому уровню.

Сенсibilизатор	Этапы эксперимента				
	2	4	5	6	8
	КСl +адреналин, 10^{-8} г/мл	КСl+ОРК	КСl+ОРК +адреналин	КСl+ОРК +адреналин +сенсibilизатор	КСl+адреналин, 10^{-8} г/мл
Гистидин (3×10^{-6} г/мл, n=9).	76,8 \pm 5,34*	103 \pm 4,91	103 \pm 7,86 ^d	33,3 \pm 5,42* ^{ae}	54,7 \pm 5,73* ^{bc}
Триптофан (10^{-6} г/мл, n=9)	47,4 \pm 7,23*	111 \pm 5,84	108 \pm 7,03 ^d	45,4 \pm 8,01* ^e	72,8 \pm 6,95* ^c
Тирозин (2×10^{-6} г/мл, n=9)	62,0 \pm 8,50*	107 \pm 1,65	101 \pm 6,04 ^d	44,0 \pm 3,76* ^e	80,3 \pm 5,55 ^c
Триметазидин (10^{-6} г/мл, n=9)	72,7 \pm 2,78*	108 \pm 1,79	109 \pm 2,31 ^d	77,9 \pm 6,82* ^e	81,6 \pm 2,39
Милдронат, (10^{-5} г/мл, n=9).	71,0 \pm 1,36*	114 \pm 3,76	107 \pm 2,43 ^d	82,0 \pm 2,19 ^e	73,0 \pm 0,97*
Сыворотка крови (1:100, n=9)	60,1 \pm 4,44*	108 \pm 3,94	101 \pm 7,62 ^d	26,4 \pm 4,37* ^{ae}	67,6 \pm 4,83* ^c

Примечание: * - различия с исходной тонической активностью (т.е. с 1-ым этапом эксперимента) достоверны, $p < 0,05$; ^a, ^b, ^c, ^d, ^e - различия между значениями соответственно 2-го и 6-го (^a), 2-го и 8-го (^b), 6-го и 8-го (^c), 2-го и 5-го (^d), 5-го и 6-го (^e) этапами эксперимента достоверны, $p < 0,05$.

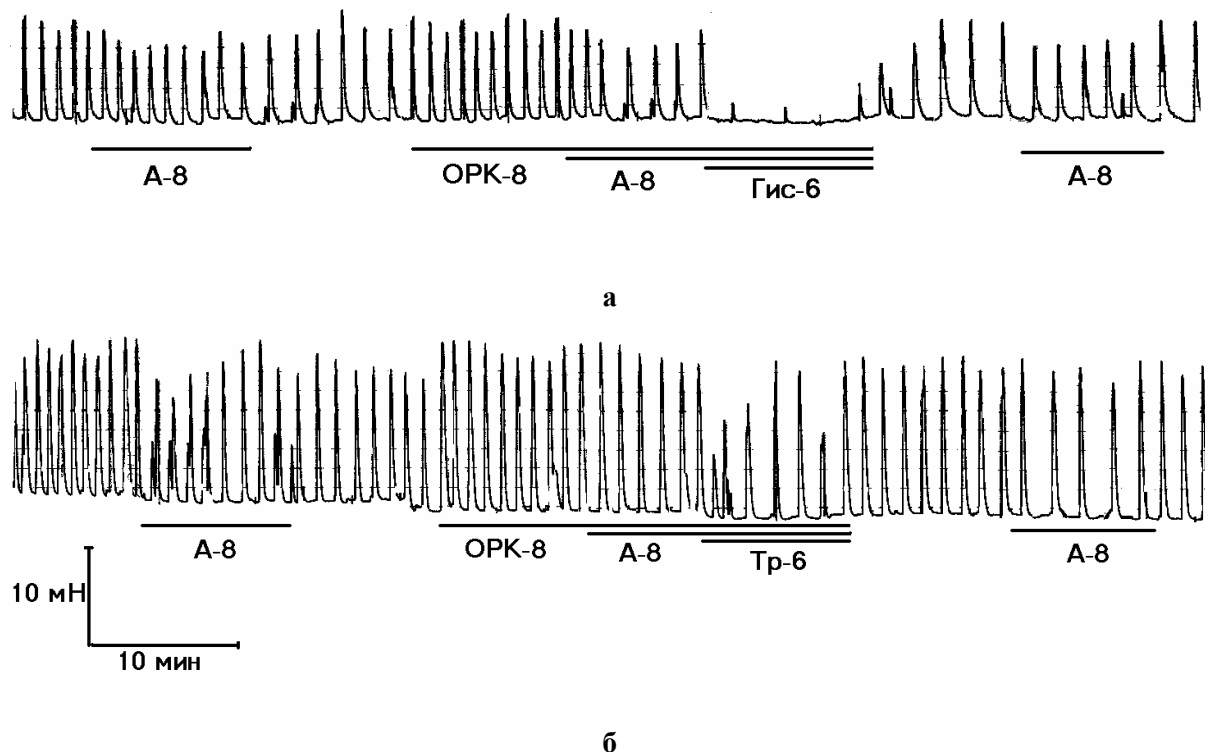


Рисунок 1. Механограммы продольных полосок рога матки небеременной крысы, демонстрирующие β -адреноблокирующее влияние озонированного раствора Кребса (5×10^{-8} г/мл) и снижение этого влияния с помощью гистидина (панель а) и триметазидаина (панель б). Горизонтальные линии под механограммами показывают момент воздействия озонированного раствора Кребса (5×10^{-8} г/мл, ОРК-8), триметазидаина (10^{-6} г/мл, Тр-6), гистидина (3×10^{-6} г/мл; Гис-6) и адреналина (10^{-8} г/мл, А-8). Калибровка 10 мН, 10 мин.

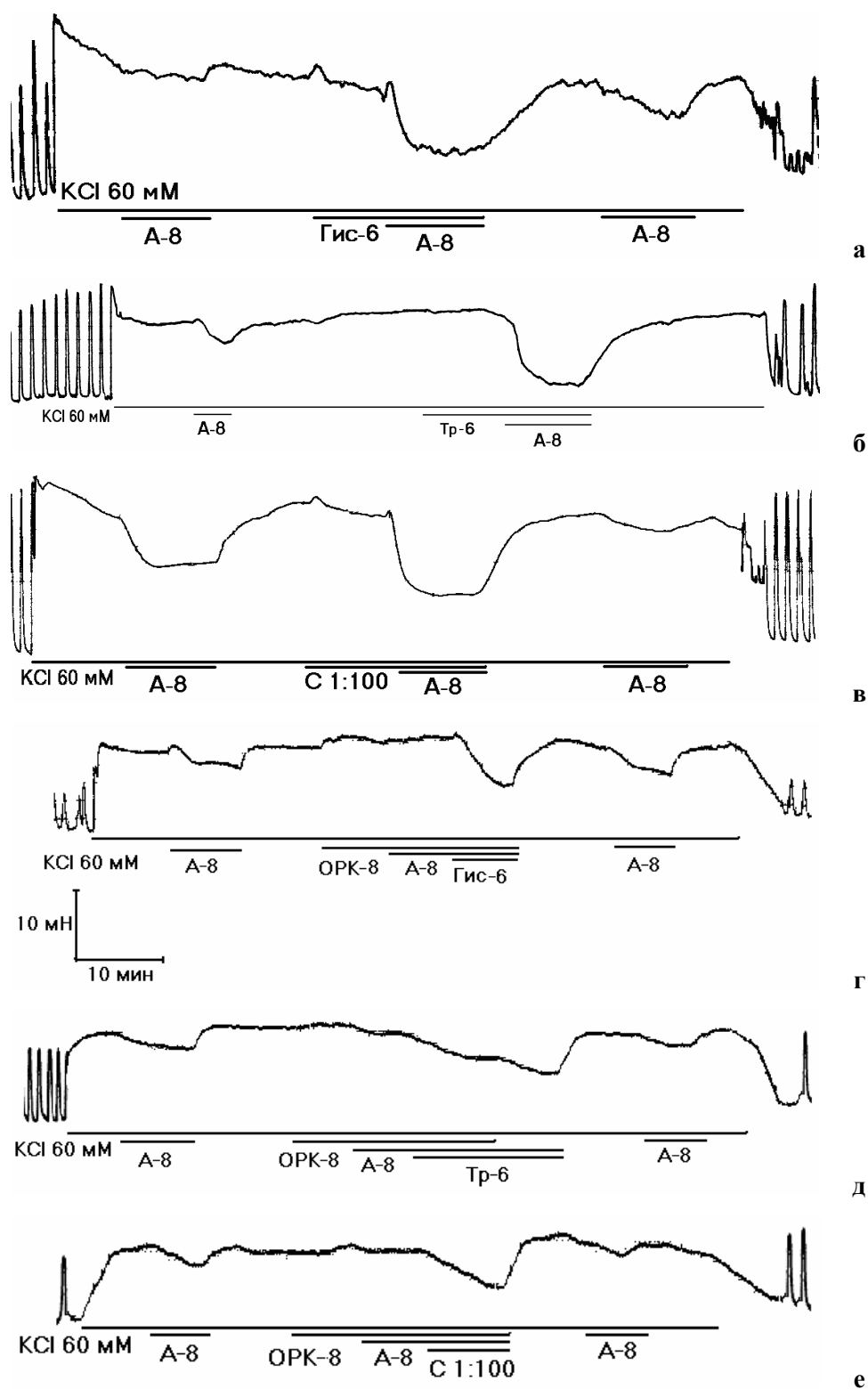


Рисунок 2. Механограммы продольных полосок рога матки небеременной крысы, демонстрирующие на фоне калиевой контрактуры отсутствие утероингибирующего и наличие β -адреносенсибилизирующего эффектов гистидина (панель а), триметазида (панель б), сыворотки крови небеременных женщин (панель в), а также β -адреноблокирующее влияние озонированного раствора Кребса (панели г, д, е) и его снижение гистидином (панель г), триметазином (панель д) и сывороткой крови небеременных женщин (панель е). Горизонтальные линии под механограммами показывают момент воздействия гиперкалиевого раствора Кребса (60 мМ КСl), озонированного раствора Кребса (5×10^{-8} г/мл, ОРК-8), гистидина (3×10^{-6} г/мл; Гис-6), триметазида (10^{-6} г/мл, Тр-6), сыворотки крови (С1:100) и адреналина (10^{-8} г/мл, А-8). Калибровка 10 мН, 10 мин.

В сериях 7-12 на продольных полосках матки крысы изучали влияние гистидина (3×10^{-6} г/мл), триптофана (10^{-6} г/мл), тирозина (2×10^{-6} г/мл), триметазида (10^{-6} г/мл), милдроната (10^{-5} г/мл) и сыворотки (1:100) крови на β -адреноблокирующий эффект озона (5×10^{-8} г/мл). Для этого на фоне калиевой контрактуры проводили 4 (по 10 минут) тестирования адреналином (10^{-8} г/мл): до озона, на его фоне, на фоне озона и исследуемого фактора и после их удаления. Установлено (табл.2, рис 2, *z-e*), что адреналин при 1-м тестировании достоверно снижал калиевую контрактуру, а озон не изменял ее, но существенно снижал релаксирующий эффект адреналина (2-тестирование). Гистидин (рис. 2, *z*), триптофан, тирозин, триметазидин (рис. 2, *d*), милдронат и сыворотки крови (рис 2, *e*) существенно и обратимо повышали релаксирующий эффект адреналина.

Следовательно, гистидин, триптофан, тирозин, триметазидин, милдронат и эндогенный сенсibilизатор β -адренорецепторов независимо от уровня мембранного потенциала миоцитов уменьшают проявление β -адреноблокирующего действия озона.

Обсуждение результатов

С учетом механизма β -адренорецепции [6,15,17,18], полагаем, что озон снижает β -адренореактивность миоцитов за счет уменьшения сродства β -адренорецепторов к агонисту (в результате активации фосфорилирования этих рецепторов?) или разобщения передачи сигнала внутрь клетки. Не исключено, что такое действие озона может быть использовано при лечении артериальной гипертензии (например, в комплексе с β -адреноблокаторами). С другой стороны, результаты исследования показывают, что озон может вызывать нежелательные побочные эффекты, оказывая β -адреноблокирующий эффект. Это может быть противопоказанием для озонотерапии или выполнения озоноопасных работ. В этих случаях для уменьшения негативного действия озона, как показали результаты исследования, вероятно, целесообразно использовать β -адреносенсibilизаторы прямого действия, т.е. гистидин, триптофан, тирозин, предуктал и милдронат, эффект которых, возможно, обусловлен восстановлением сродства β -адренорецепторов к агонистам (вследствие активации фосфатазы, осуществляющей дефосфорилирование β -адренорецепторов?) или передачи сигнала от β -адренорецепторов внутрь клетки. Как известно [10,13], содержание эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов в крови зависит от пола (у женщин выше, чем у мужчин) и этапа репродуктивного процесса (у беременных женщин

выше, чем у небеременных). Наши данные о способности сыворотки крови восстанавливать сниженную под влиянием озона β -адренореактивность позволяет предположить, что реакция организма на воздействие озона будет зависеть от содержания в крови эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов – чем оно выше, тем меньше должен проявляться β -адреноблокирующий эффект озона. Таким образом, при озонотерапии и проведении озоноопасных работ следует учитывать содержание в крови эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов и его компонентов (гистидина, триптофана и тирозина). В целом, обнаружение принципиально нового свойства у гистидина, тирозина, триптофана, триметазида, милдроната и эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов расширяет перспективу разработки новых методов лечения патологии внутренних органов, обусловленной недостаточностью β -адренергических влияний. С другой стороны, способность сыворотки крови, гистидина, триптофана и тирозина уменьшать β -адреноблокирующий эффект озона позволяют говорить об участии эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов и его компонентов в поддержании оптимальной β -адренореактивности клеток организма в различных условиях обитания человека и животных, в том числе в условиях повышенного содержания озона в окружающей среде. С этих позиций дальнейшее изучение физиологической роли эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов и его компонентов (гистидина, триптофана и тирозина) следует рассматривать как одно из перспективных направлений в физиологии и медицины.

Список литературы

1. Белянин И.И., Шмелев Е.И. //Проблемы туберкулеза.1998. № 1. С. 30.
2. Бояринов Г.А., Соколов В.В. Озонированное искусственное кровообращение. Н. Новгород: «Покровка», 1999. 317 с.
3. Густов А.В., Котов С.А., Конторщикова К.Н., Потехина Ю.П. Озонотерапия в неврологии. Н. Новгород: Литера, 1999. 178с.
4. Качалина Т.С., Гречканев Г.О., Шахова Н.М. //Озон и методы эфферентной терапии в медицине: Тез. докл. конф. Н. Новгород: НГМА, 1998. С. 50.
5. Ноздрачев А.Д., Туманова Т.В., Дворянский С.А. и др. // Доклады РАН. 1998. Т. 363, № 1. С. 133.
6. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ. Волгоград: «Семь ветров», 1999. 640с.

7. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Дворянский С.А. // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2002.Т. 88, № 7. С. 856.
8. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Костяев А.А. и др. //Биология - наука XXI века: Сб. тезисов 6-й Пущинской школы-конференции молодых ученых. Пущино, 2002. С. 139.
9. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Подтетенов А.Д. и др. // Росс. кардиол. журн. 2002. № 2 (34). С. 50.
10. Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции). – Киров: КГМА, 1997. 270 с.
11. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев А.Д. и др. // Доклады РАН.-1996. Т. 351, № 4. С. 565.
12. Циркин В.И., Дворянский С.А., Джергения С.Л. и др. // Физиология человека. 1997. Т. 23, № 5. С 85.
13. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев и др. //Доклады РАН. - 1997. Т. 352, № 1. С. 124.
14. Циркин В.И., Сизова Е.Н., Подтетенов А.Д. и др. //Росс. кардиол. журн., 2002.№ 1 (33). С. 45.
15. Циркин В.И., Трухина С.И. Физиологические основы психической деятельности и поведения человека.- М.: Медицинская книга, 2001. 524 с.
16. Яворская В.А., Малахов В.А., Хвисюк В.В. и др. //Місцеве та парентеральне використання озонотерапії в медицині: Сб. наук. робіт.- Харків, 2001. С. 45.
17. Chuang Tsu Tshen, Sallese M, Ambrosini G. et al. // J. Biol. Chemistry. 1992.V.267, № 10. P. 6886.
18. Haussdorff W., Caron M., Lefkowitz R. // FASEB Journal, 1990. V. 4, № 11. P. 2881

Ability of histidine, triptophan, tyrosine, trimetazidin, mildronat and blood serum to reduce β -adrenoblokatory effect of ozone

Sizova E.N., Tsirkin V.I., Tumanova T.V., Kostjaev A.A.

In experiences with 197 untouched and depolarized hyperpotassium (60 mM KCl) Krebs solution

It was show, that histidin (3×10^{-6} г/мл), triptophan (10^{-6} г/мл), tyrosine (2×10^{-6} г/мл), trimetazidin (10^{-6} г/мл), mildronat (10^{-5} г/мл) and blood serum (1:100) of nonpregnant women (as a source endogenic sensibilizator of β -adrenoceptors) raise initial and restore reduced by ozonized Krebs solution (5×10^{-8} g ozone/ml) β -adrenoreactivity of longitudinal strips (n=197) of rat uterus horn (n=28). It specifies perspectivity using of exogenic analogues of endogenic sensibilizator of β -adrenoceptors (histidine and others) for preventive maintenance of complications, which may arise at ozonotherapy or in ozone danger manufactures, and also on necessity at professional selection and forecasting of safety ozonotherapy the account of the contents of blood endogenic sensibilizator of β -adrenoceptors.