

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЕ, ИНОТРОПНЫЕ И АНТИАРИТМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСНОГО АДАПТОГЕННОГО ПРЕПАРАТА “ТОНИЗИД”

Ю. Б. Лишманов¹, Л. Н. Маслов¹, А. Г. Арбузов², А. В. Крылатов¹,
А. А. Платонов¹, В. Н. Буркова², Е. А. Каюмова³

Использовали комплексный адаптогенный препарат “тонизид”, содержащий сухой экстракт *Aralia mandshurica*, *Panax ginseng*, *Rhodiola rosea*, *Eleutherococcus senticosus*. Курсовое введение (5 дней) тонизида вызывало уменьшение отношения зона некроза/зона риска при 45-минутной локальной ишемии и двух часовой реперфузии у наркотизированных хлоралозой крыс, находящихся на искусственной вентиляции. Препарат уменьшал размер зоны некроза, но не оказывал эффекта на размер зоны риска. Тонизид предупреждал появление желудочковой фибрилляции во время 45-минутной коронароокклюзии, но не влиял на частоту появления желудочковых аритмий при кратковременной ишемии и реперфузии. В отдельной серии экспериментов тонизид вводили в течение 5 дней крысам с постинфарктным кардиосклерозом, который формировался через 45 дней после коронароокклюзии. В этом случае тонизид дозозависимо увеличивал порог фибрилляции желудочков. В экспериментах *in vitro* была использована модель тотальной 35-минутной ишемии и 30-минутной реперфузии изолированного сердца крысы по методу Лангендорфа. Курсовое введение тонизида ослабляло реперфузионное снижение давления, развиваемого левым желудочком, и скорости сокращения. Однако тонизид не предупреждал реперфузионное снижение частоты сердечных сокращений, уменьшение скорости сокращения и увеличение конечного диастолического давления. Тонизид уменьшал уровень креатинкиназы в перфузионном растворе, оттекающем от сердца. Вместе с тем растительный адаптоген не оказывал эффекта на частоту возникновения желудочковых аритмий и коронарный проток. Полагают, что тонизид является адаптогенным препаратом, который ослабляет сократительную дисфункцию и предупреждает появление необратимых повреждений кардиомиоцитов во время ишемии и реперфузии изолированного сердца. Авторы заключают, что тонизид проявляет кардиопротекторные и антифибрилляторные свойства при острой ишемии/реперфузии и постинфарктном кардиосклерозе.

Ключевые слова: адаптогены, сердце, ишемия, реперфузия, сократимость, некроз, кардиосклероз, коронарный проток, аритмии

ВВЕДЕНИЕ

Единственным эффективным подходом к лечению острого инфаркта миокарда (ОИМ) признано восстановление кровотока в инфарктсвязанной артерии с помощью тромболитика, эндоваскулярного или хирургического вмешательства [9]. Необратимые повреждения кардиомиоцитов после коронароокклюзии формируются быстро, уже через 6 ч завершаясь формированием очага некроза. Следовательно, чем быстрее удастся возобновить кровоток в инфарктсвязанной артерии, тем более высока вероятность спасти жизнь пациента [2, 9]. В связи с этим при ОИМ важно повысить толерантность кардиомиоцитов к патогенному действию ишемии-реперфузии, что позволит выиграть время для возобновления коронарной перфузии. Экспериментальные данные свидетельствуют, что добиться этого

можно с помощью β -адреноблокатора пропранолола [2]. Однако у больных с острым инфарктом миокарда β -адреноблокаторы применяют редко. Связано это с тем, что эти препараты снижают насосную функцию сердца и, как следствие, провоцируют возникновение кардиогенного шока [9]. Известно, что основными патогенетическими проявлениями коронароокклюзии и реперфузии являются: (а) необратимые повреждения кардиомиоцитов, (б) снижение насосной функции сердца, (в) нарушения сердечного ритма. К сожалению, в настоящее время не существует лекарственного средства, способного с высокой эффективностью устранять все три основных проявления острого инфаркта миокарда. β -Адреномиметики, улучшающие сократимость сердца у больных с ОИМ, способствуют увеличению размеров очага некроза [9]. β -Адреноблокаторы замедляют появление необратимых повреждений кардиомиоцитов, но усугубляют сократительную дисфункцию сердца [9]. Антиаритмик I класса лидокаин, который обычно используют для купирования аритмий у пациентов с ОИМ, также оказывает отрицательный инотропный эффект [9]. Причиной смерти пациентов с

¹ Лаборатория экспериментальной кардиологии ГУ НИИ кардиологии Томского Научного Центра СО РАМН, ул. Киевская 111, 634050 Томск, Email: Maslov@cardio.tsu.ru.

² ООО “Биолит”, Томск.

³ Томский государственный педагогический университет, Томск.

ИБС является не только острый инфаркт миокарда, но и внезапная сердечная смерть (ВСС), которая часто возникает у пациентов с постинфарктным кардиосклерозом в результате фибрилляции желудочков [9]. Среди препаратов, разрешенных к клиническому применению, только β -адреноблокаторы и амиодарон способны снизить вероятность ВСС [5]. Однако эти лекарственные средства не способны полностью исключить возможность возникновения внезапной сердечной смерти, они лишь снижают вероятность этого фатального события. Часто пациенты с постинфарктным кардиосклерозом погибают не только от ВСС, но и от повторного инфаркта миокарда [9]. Таким образом, назрела настоятельная необходимость в создании препаратов, способных повысить толерантность миокарда к ишемии, улучшить насосную функцию инфарктированного сердца и предотвратить возникновение аритмий при ОИМ и у пациентов с постинфарктным кардиосклерозом.

На наш взгляд, природные адаптогены могли бы стать прототипом для разработки подобных препаратов, поскольку некоторые из них (экстракт родиолы) *in vivo* проявляют антиаритмические свойства на модели адреналиновых аритмий [6], а *in vitro* повышают толерантность изолированного перфузируемого сердца к патогенному действию ишемии-реперфузии [4]. Препараты женьшеня замедляют формирование зоны некроза при экспериментальной коронароокклюзии *in vivo* [15].

Исходя из сказанного, мы решили исследовать антиаритмическую, инотропную и кардиопротекторную активность комплексного адаптогенного препарата “тонизид”, в состав которого входит сухой экстракт родиолы и женьшеня.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты *in vivo* и *in vitro* выполнены на крысах линии Вистар. Подопытным животным вводили тонизид или пропранолол. В качестве контроля использовали животных, которым через зонд вводили воду. Интактными называли крыс, которым перед коронароокклюзией не вводили препараты или воду.

Эксперименты *in vivo* выполнены на крысах массой 200 – 250 г, наркотизированных α -хлоралозой (50 мг/кг внутривенно). Коронароокклюзию и реперфузию моделировали в условиях искусственной вентиляции легких воздухом с помощью модифицированного аппарата РО-2 (ОАО “Красногвардеец”, Россия, Петербург) [14]. Продолжительность коронароокклюзии составляла 45 мин, затем лигатуру развязывали и в течение 2 ч проводили реперфузию, после чего повторно завязывали лигатуру. Для определения зоны риска (зона ишемии) крысам внутривенно вводили краситель patent blue violet [14]. Сердце извлекали из грудной клетки, делали поперечные срезы толщиной 2 – 3 мм, иссекали неокрашенные участки сердца

(зона ишемии) и помещали их в раствор нитротетразолия (nitrotetrazolium blue chloride) [14]. Ишемизированная, но жизнеспособная ткань сердца окрашивалась в синий или серо-зеленый цвет, а некротизированный миокард сохранял бледно-розовую окраску. Размер зоны некроза и зоны риска определяли гравиметрически. Кардиопротекторный эффект препаратов оценивали по соотношению зона некроза/зона риска (ЗН/ЗР), которое выражали в процентах, принимая за 100 % размер зоны ишемии (зона риска). Электрокардиограмму регистрировали непрерывно в течение 45 мин ишемии и 10 мин последующей реперфузии. Запись ЭКГ осуществляли в первом грудном отведении с помощью усилителя биопотенциалов (УБФ4–03, Россия) и компьютера Pentium с использованием оригинальной прикладной программы. При анализе ЭКГ принимали во внимание частоту возникновения единичных и множественных желудочковых экстрасистол, желудочковой тахикардии, фибрилляции желудочков. Следует отметить, что патогенез аритмий, возникающих при ишемии и реперфузии, существенно различается [13], поэтому анализ нарушений сердечного ритма при коронароокклюзии и реперфузии мы осуществляли отдельно. Кроме того, известно, что механизмы возникновения аритмий в первые 10 мин ишемии (фаза 1а) и после 10-минутной коронароокклюзии (фаза 1б) также отличаются друг от друга [13]. Исходя из вышесказанного, мы анализировали частоту и характер аритмий, возникающих в первые 10 мин коронароокклюзии (фаза 1а), в последующие 11 – 45 мин ишемии (фаза 1б) и в первые 10 мин реперфузии.

Для моделирования кратковременной 10-минутной ишемии и 10-минутной реперфузии животных наркотизировали хлоралозой и переводили на искусственную вентиляцию. Коронароокклюзию и реперфузию моделировали по тому же методу, что и в случае длительной ишемии-реперфузии [14]. Запись ЭКГ осуществляли непрерывно в течение 10 мин ишемии и 10 мин последующей реперфузии. Для усиления аритмогенного эффекта ишемии-реперфузии использовали агонист β -адренорецепторов изопроterenол, который вводили внутривенно болюсом сразу же после перевязки коронарной артерии в дозах: 0,01; 0,05; 0,1 мг/кг.

Для моделирования постинфарктного кардиосклероза у крыс под эфирным наркозом и без искусственной вентиляции осуществляли коронароокклюзию [14]. Через 45 дней, когда у крыс завершался процесс формирования постинфарктного рубца [10], осуществляли измерение порога фибрилляции желудочков (ПФЖ), как изложено нами ранее [12]. Для определения ПФЖ использовали электрокардиостимулятор ЭКСД-01Л, модифицированный для экспериментальных исследований ООО “Биоток” (Томск, Россия).

Эксперименты *in vitro* проводили на крысах-самцах массой 250 – 300 г. После торакотомии сердце бы-

стро извлекали и переносили в охлажденный (+ 4 °С) раствор Кребса-Хензелята до прекращения спонтанных сокращений, после чего сердце помещали в аппарат Лангендорфа. Ретроградную перфузию сердца проводили по методу Лангендорфа по открытому контуру. Сократительную функцию сердца регистрировали в условиях перфузии под постоянным давлением 52 мм рт. ст. раствором Кребса-Хензелята, насыщенным карбогеном (+ 37 °С, pH 7,4) и содержащим (в mM): NaCl — 120; KCl — 4,8; CaCl — 2,0; MgSO₄ — 1,2; KH₂PO₄ — 1,2; NaHCO₃ — 20; глюкоза — 10. После стабилизационного периода в 20 мин регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и показатели сократимости изолированного сердца: давление, развиваемое левым желудочком (мм рт. ст.) (ДРЛЖ); конечное диастолическое давление (КДД). Последнее выражали в процентах, принимая за 100 % исходную величину КДД. Кроме того, рассчитывали максимальную скорость сокращения (МСС) и максимальную скорость расслабления (МСП) сердца и выражали в мм рт. ст./с. В качестве показателя некротической гибели изолированного сердца мы использовали определение активности креатинфосфокиназы (КФК) в перфузионном растворе, оттекающем от сердца. Активность КФК определяли на спектрофотометре Spectord M 40 (Германия) при помощи стандартных энзиматических наборов СК-NAc компании “Bioscon Diagnostik” (Германия). Перфузат, собранный за первые 10 мин стабилизационного периода, отбрасывали, поскольку он содержал кровь, поступающую в перфузионный раствор из полостей сердца и коронарного русла. В перфузате, собранном за 10 мин последующей перфузии до ишемии и за 30 мин реперфузии после ишемии, рассчитывали общее количество КФК, делая перерасчет на 1 г массы сердца. Верхней границей нормы считали количество КФК, равное 4 Ед/мл · г массы сердца. В эксперимент брали только те сердца, для которых активность КФК в перфузате исходно до ишемии не превышала этот показатель. Тотальную ишемию моделировали путем прекращения перфузии на 35 мин. Продолжительность реперфузии составила 30 мин. Реагенты, использованные для приготовления раствора Кребса-Хензелята, были закуплены в компании ICN Biomedicals (“Irvine”, США).

В работе использовали комплексный адаптогенный препарат тонизид (производитель ООО “Биолит”, Томск, Россия), содержащий сухой экстракт элеутерококка, родиолы розовой, женьшеня и аралии в равных пропорциях, наполнителем служила глюкоза [8]. Препарат хорошо растворим в воде. После растворения в воде препарат вводили *per os* с помощью зонда. Суммарная дозировка экстрактов элеутерококка, родиолы, женьшеня и аралии составляла 16 (400 мг/кг тонизида) и 48 мг/кг (1200 мг/кг тонизида) или 4 мг/кг и 12 мг/кг для каждого адаптогена соответственно. Тонизид вводили один раз в день в течение 5 дней. Последнее, шестое введение производили за 2 ч до коро-

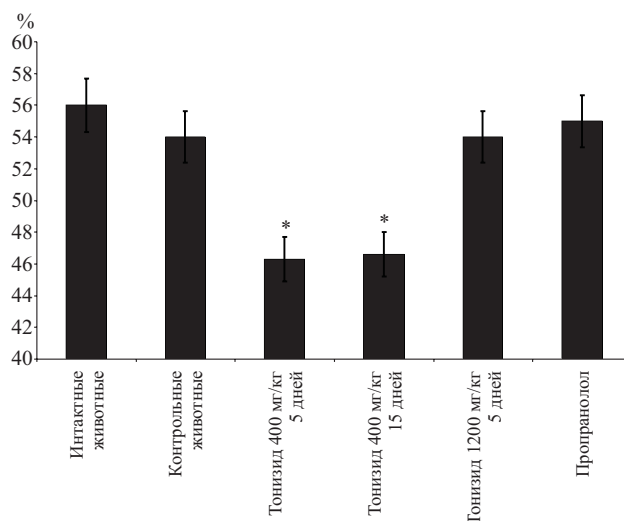


Рис. 1. Влияние тонизида и пропранолола на величину соотношения зоны некроза к зоне риска.

* — $p < 0,001$ по сравнению с интактными и контрольными животными. В каждой группе — 15 животных.

нароокклюзии, определения ПФЖ или извлечения сердца.

В отдельной серии экспериментов адаптоген вводили в течение 15 дней. Последнее, шестнадцатое введение делали за 2 ч до перевязки коронарной артерии. В качестве препарата сравнения использовали (\pm)-пропранолол. Пропранонол вводили внутривенно в дозе 0,5 мг/кг за 15 мин до коронароокклюзии. При выборе дозы названного β -адреноблокатора мы руководствовались данными литературы о том, что ED₅₀ для кардиопротекторного действия пропранолола составляет 0,5 мг/кг на модели коронароокклюзии и реперфузии у собак [2]. Пропранонол, изопроterenол и красители были закуплены в компании “Sigma” (США). Пропранонол и patent blue violet перед инъекцией растворяли в стерильном 0,9 % растворе NaCl. Исследования по изучению кардиопротекторной, инотропной и антиаритмической активности тонизида проводили слепым методом — препарат и воду вводил один исследователь, а коронароокклюзию и обработку результатов выполнял другой экспериментатор, который не знал, какие крысы являются подопытными, а какие — контрольными.

Результаты обрабатывали статистически с использованием t -критерия Стьюдента и критерия χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показано на рис. 1, курсовое введение тонизида (400 мг/кг) в течение 5 дней вызывало достоверное уменьшение отношения ЗН/ЗР на 15 % по отношению к группе контроля, в качестве которого использовали животных, которым в течение 5 дней через зонд вводили воду, и на 17 % по отношению к интактным животным, которые до коронароокклюзии не получали

ни воду, ни препараты. Адаптоген не влиял на величину зоны ишемии. Этот факт говорит о том, что кардиопротекторное действие тонизида не связано с усилением коллатерального кровотока, а является следствием повышения резистентности кардиомиоцитов к действию ишемии. Уменьшение отношения ЗН/ЗР происходило за счет уменьшения размера зоны некроза (рис. 1). Аналогичное снижение индекса ЗН/ЗР мы отмечали при 15-дневном курсовом введении тонизида (400 мг/кг) (рис. 1). Увеличение дозировки адаптогенного препарата до 1200 мг/кг (суммарная доза адаптогенов 48 мг/кг) при курсовом 5-дневном введении привело не к ожидаемому усилению антиишемического эффекта тонизида, а к исчезновению кардиопротекторного действия препарата.

Следовательно, тонизид оказывал выраженный и стойкий кардиопротекторный эффект, который проявляется как при 5-дневном, так и при 15-дневном введении. Антиишемический эффект тонизида исчезал при увеличении дозы препарата до 1200 мг/кг, что говорит об относительной узости диапазона терапевтического действия. Механизм цитопротекторного эффекта тонизида неизвестен. Возможно, такое действие препарата связано с увеличением в миокарде содержания белков теплового шока HSP-70, поскольку курсовое введение экстракта родиолы вызывает повышение в миокарде крыс содержания белков HSP-70, которые участвуют в формировании адаптационной толерантности сердца к действию ишемии [3]. В этой связи следует отметить, что в состав тонизида входит сухой экстракт родиолы розовой, поэтому гипотеза о возможности участия белков HSP-70 в реализации кардиопротекторного эффекта тонизида представляется нам вполне уместной.

Нам не удалось обнаружить кардиопротекторных свойств у пропранолола, хотя мы применяли этот препарат в дозе равной ED₅₀ (0,5 мг/кг). Этот результат оказался для нас неожиданным, поскольку этот β-адреноблокатор принято считать стандартным кардиопротекторным препаратом [2]. Причина неудачи может заключаться в том, что о кардиопротекторной активности пропранолола в 70-х годах прошлого столетия судили по уменьшению величины очага некроза,

которую рассчитывали в процентах от общей площади трансмуральных срезов сосочковой мышцы [2]. В настоящее время исследователи повсеместно отказались от подобного подхода. Для оценки кардиопротекторной активности препаратов рассчитывают отношение ЗН/ЗР [14], поскольку такой подход позволяет свести до минимума влияние “человеческого фактора” в экспериментах. Вместе с тем нельзя исключить и возможность того, что пропранолол оказывает кардиопротекторный эффект у собак, но не влияет на отношение ЗН/ЗР у крыс.

Одним из основных проявлений ишемического и реперфузионного повреждения сердца являются желудочковые аритмии. Если препарат предупреждает появление необратимых повреждений кардиомиоцитов при коронароокклюзии и реперфузии, то логично было предположить, что он способен препятствовать возникновению ишемических и реперфузионных аритмий. Кроме того, результаты наших предыдущих исследований свидетельствуют о том, что курсовое введение экстракта родиолы повышает устойчивость крыс к аритмогенному действию адреналина [6]. Экстракт родиолы входит в состав тонизида, поэтому мы предположили, что последний также может обладать антиаритмической активностью. Чтобы оценить антиаритмические свойства тонизида, ЭКГ регистрировали в течение 45 мин ишемии и последующей 10-минутной реперфузии.

Как видно из табл. 1, тонизид (400 мг/кг в течение 5 дней) не оказывал достоверного влияния на частоту и характер нарушений сердечного ритма, возникающих в фазу 1а ишемии и во время реперфузии. В то же время у крыс, получавших тонизид, не было зафиксировано ни одного случая фибрилляции желудочков в фазу 1b коронароокклюзии. Увеличение дозы тонизида до 1200 мг/кг (курсовое введение в течение 5 дней) приводило к исчезновению антиаритмического эффекта адаптогенного препарата (данные не представлены в таблице). Не удалось нам обнаружить антифибрилляторный эффект тонизида при 15-дневном введении препарата в дозе 400 мг/кг. Почему антиаритмический эффект препарата исчезает при увеличении дозы препарата и/или при длительном введении адаптогена?

Таблица 1. Влияние тонизида на частоту возникновения ишемических (45 мин) и реперфузионных (10 мин) аритмий

Группа животных	Ишемия (10 мин)				Ишемия (10 – 45 мин)				Реперфузия (10 мин)			
	БЖА	МЖЭ	ЖТ	ЖФ	БЖА	МЖЭ	ЖТ	ЖФ	БЖА	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
Интактные (n = 15)	3(20)	12(80)	11(73)	4(27)	2(13)	13(87)	11(73)	4(27)	14(93)	1(7)	1(7)	0(0)
Тонизид (n = 14)	4(29)	10(71)	8(57)	1(7)	3(21)	11(79)	10(71)	0(0)*	13(93)	1(7)	0(0)	0(0)
Контроль (n = 14)	3(21)	11(79)	10(71)	2(14)	3(21)	11(79)	10(71)	1(7)	13(93)	1(7)	0(0)	0(0)

Примечание. n — количество животных в группе. * p < 0,05 — по отношению к интактным животным. Здесь и в табл. 2: БЖА — без желудочковых аритмий, МЖЭ — множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ — желудочковая тахикардия, ЖФ — желудочковая фибрилляция. В скобках — аритмии, %.

Почему антифибрилляторный эффект проявляется только в фазу 1b? Возможно, ответ кроется в патогенезе необратимых повреждений кардиомиоцитов и в механизме кардиопротекторного действия тонизида. Известно, что некротическая гибель кардиомиоцитов отмечается только при продолжительности ишемии более 10 – 15 мин [11]. В этой связи следует обратить внимание на то, что тонизид замедляет появление необратимых повреждений в кардиомиоцитах и, следовательно, есть основание полагать, что антифибрилляторное действие тонизида является следствием его кардиопротекторной активности. Действительно, антиаритмический эффект препарата исчезал при использовании дозы 1200 мг/кг, в которой адаптоген не влиял на соотношение ЗН/ЗР. Этот факт, казалось бы, говорит в пользу существования причинной связи между увеличением устойчивости сердца к действию ишемии-реперфузии и повышением электрической стабильности сердца. Однако при 15-дневном введении тонизида кардиопротекторный эффект сохранялся, а антифибрилляторный — исчезал.

Чтобы выяснить, существует ли связь между кардиопротекторным и антиаритмическим действием тонизида, мы исследовали антиаритмическую активность тонизида при 10-минутной коронароокклюзии и 10-минутной реперфузии, то есть при патологическом состоянии, не сопровождающемся некрозом кардиомиоцитов [11]. Как показано в табл. 2, тонизид не оказывал достоверного влияния на характер и частоту желудочковых аритмий при 10-минутной ишемии-реперфузии. В предыдущих экспериментах было установлено, что при 45-минутной ишемии тонизид избирательно снижает частоту возникновения желудочковой фибрилляции. Можно было предположить, что тонизид проявляет антифибрилляторную активность и не влияет на другие нарушения сердечного ритма. Частота возникновения ишемической (у 3-х из 14 крыс) и реперфузионной фибрилляции желудочков (у 2-х животных из 14) была в этой серии невелика, поэтому мы могли и не обнаружить антифибрилляторного эффекта препарата, если последний и обладал такими свойст-

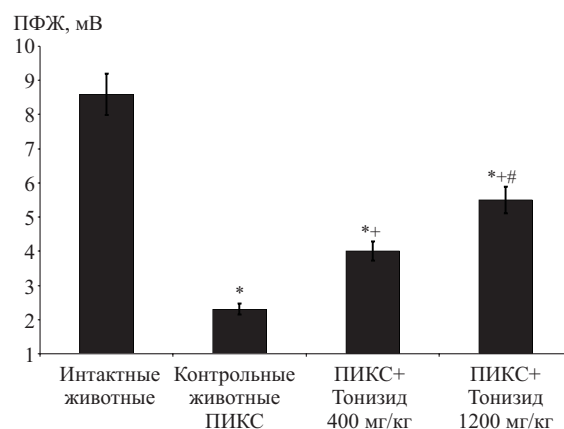


Рис. 2. Влияние тонизида в дозе 400 мг/кг (5 дней) и 1200 мг/кг (5 дней) на порог желудочковой фибрилляции (ПФЖ) у крыс с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС).

Различия достоверны по сравнению: * — $p < 0,001$ с интактными животными; + — $p < 0,001$ с контрольными животными ПИКС; # — $p < 0,005$ с животными ПИКС + тонизид 400 мг/кг. В каждой группе — 15 животных.

вами. Исходя из сказанного, мы решили усилить аритмогенный эффект коронароокклюзии с помощью внутривенного введения изопроterenолола (изадрина). Оказалось, что внутривенное введение изадрина в дозе 0,01 мг/кг не влияет на частоту и характер окклюзионных и реперфузионных аритмий (табл. 2). Инъекция β -адреномиметика в дозе 0,05 мг/кг усилила аритмогенный эффект ишемии-реперфузии, частота возникновения ЖФ при коронароокклюзии увеличилась в 2,5 раза, а в реперфузионном периоде ЖФ возникала в 4 раза чаще, чем в группе контроля. Дальнейшее увеличение дозы изадрина до 0,1 мг/кг привело к тому, что у всех крыс возникали желудочковые аритмии. Особенно заметно увеличилась частота фибрилляции желудочков, которая отмечалась у 5 из 6 крыс при коронароокклюзии и у всех животных при реперфузии. Учитывая тот факт, что β -адреномиметик в дозе 0,1 мг/кг оказывал слишком сильный аритмогенный эффект, для дальнейших экспериментов мы вы-

Таблица 2. Влияние тонизида (400 мг/кг) и агониста β -адренорецепторов изадрина на характер и частоту возникновения аритмий при 10-минутной коронароокклюзии-реперфузии

	Ишемия (10 мин)				Реперфузия (10 мин)			
	БЖА	МЖЭ	ЖТ	ЖФ	БЖА	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
Контроль ($n = 14$)	2(14)	12(86)	11(79)	3(21)	2(14)	12(86)	11(79)	2 (14)
Тонизид ($n = 15$)	2(13)	13(87)	11(73)	1(7)	2(13)	13(87)	11(73)	2 (13)
Вода ($n = 15$)	2(13)	13(87)	10(67)	2(13)	2(13)	13(87)	12(80)	5 (33)
Изадрин 0,01 мг/кг ($n = 12$)	1(8)	11(92)	9(75)	3(25)	2(17)	10(83)	9(75)	2 (17)
Изадрин 0,05 мг/кг ($n = 13$)	1(8)	10(77)	11(85)	7(54)	1(8)	7(54)	9(69)	8(62)**
Изадрин 0,1 мг/кг ($n = 6$)	0(0)	6(100)	6(100)	5(83)***	0(0)	4(67)	4(67)	6(100)#
Изадрин 0,05 мг/кг + Тонизид ($n = 13$)	2(15)	11(85)	10(77)	5(38)	2(15)	10(77)	10(77)	7(54)*

Примечание. n — количество экспериментальных животных. Различия достоверны по отношению к контролю при: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,025$; *** — $p < 0,01$; # — $p < 0,001$.

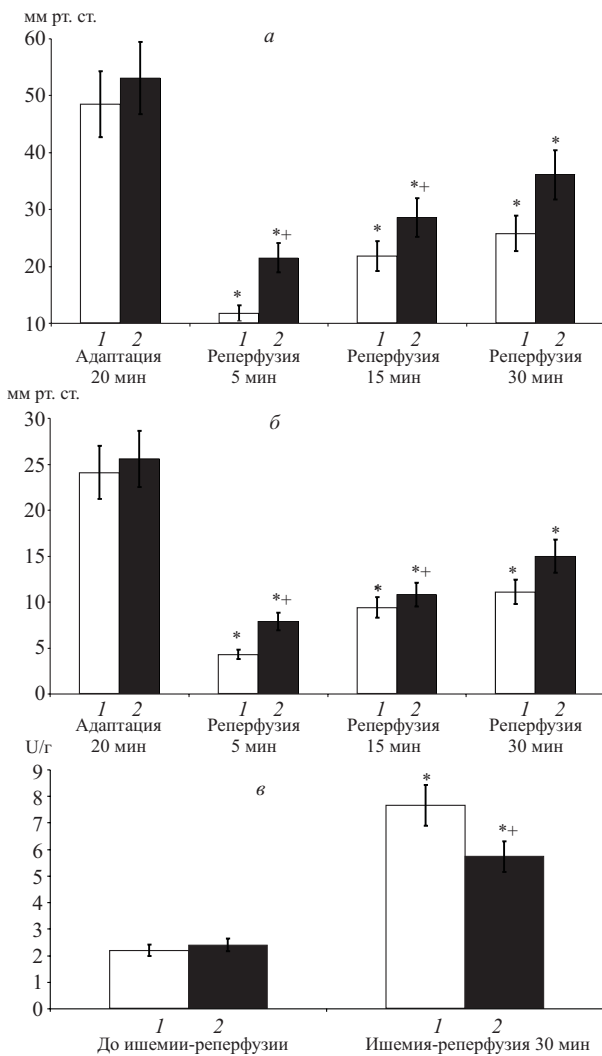


Рис. 3. Влияние тонизида на давление развиваемое левым желудочком (*а*), на максимальную скорость сокращения (*б*) и на содержание креатинфосфокиназы за 30 мин реперфузии (*в*).

1 — контрольные животные, 2 — тонизид. Различия достоверны по сравнению: * — $p < 0,05$ с исходными значениями; + — $p < 0,05$ с контрольными животными. В каждой группе — 16 животных (*а* и *б*) и 12 животных (*в*).

брали среднюю дозу — 0,05 мг/кг. Оказалось, что тонизид не оказывал антифибрилляторного влияния на фоне коронароокклюзии и активации β -адренорецепторов. Казалось бы, эти данные говорят о том, что антиаритмический эффект тонизида напрямую зависит от кардиопротекторного эффекта этого препарата. Однако дальнейшие эксперименты на крысах с постинфарктным кардиосклерозом не подтвердили это предположение.

Как показано на рис. 2, через 45 дней после коронароокклюзии у крыс формируется электрическая нестабильность сердца, что проявляется снижением порога фибрилляции желудочков с 8,6 мВ у интактных животных до 2,3 мВ у крыс с постинфарктным рубцом. После 5-дневного курсового введения тонизида в дозе 400 мг/кг ПФЖ увеличивался в 2 раза по сравнению с

группой контроля, а после применения адаптогена в дозе 1200 мг/кг ПФЖ увеличивался в 3 раза по сравнению с контрольной величиной.

Следовательно, на модели постинфарктного кардиосклероза тонизид проявляет дозозависимый антифибрилляторный эффект. Поскольку через 45 дней после коронароокклюзии у крысы очаг некроза полностью замещается рубцовой тканью [10], то говорить о каком-то антиишемическом или кардиопротекторном действии тонизида не приходится. Следовательно, тонизид обладает собственной антиаритмической активностью, которая не зависит от кардиопротекторных свойств препарата. Усиление антифибрилляторного эффекта тонизида при увеличении дозы препарата до 1200 мг/кг, на наш взгляд, является аргументом в пользу того, что названный эффект адаптогена не зависит от его цитопротекторного действия, поскольку в указанной дозе препарат не проявляет кардиопротекторной активности. Неясным остается вопрос, почему адаптогенный препарат не проявляет антифибрилляторной активности на модели кратковременной ишемии и реперфузии. Принято считать, что фибрилляция возникает по механизму re-entery, независимо от природы патогенного фактора, который ее индуцировал [5]. Такой же распространенной является точка зрения о том, что антиаритмики предупреждают возникновение фибрилляции, независимо от первопричины ЖФ [5]. Исходя из сказанного, можно предположить, что тонизид действует не на электрофизиологические процессы, которые лежат в основе re-entery, а на те факторы, которые лежат в основе электрической нестабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе. Бесспорно, механизм антифибрилляторного действия тонизида нуждается в дальнейшем изучении.

Одним из основных недостатков большинства антиаритмиков, применяемых в клинике, является отрицательный инотропный эффект [5], что ограничивает возможность их широкого применения у пациентов, страдающих сердечной недостаточностью, поэтому важно было выяснить, как скажется курсовое применение тонизида на сократимости сердца. Ответить на этот вопрос мы попытались в экспериментах на перфузируемых сердцах, изолированных из организма крыс, получавших тонизид в течение 5 дней в дозе 400 мг/кг. В качестве контроля были использованы крысы, которым через зонд вводили воду. Оказалось, что исходно до моделирования ишемии и реперфузии разницы по ЧСС или по параметрам сократимости (ДРЛЖ, МСС, МСР, КДД) между контролем и опытом не существует. После моделирования тотальной ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца в группе контроля отмечалось снижение ЧСС, ДРЛЖ, МСС, МСР, а КДД, напротив, увеличивалось. Сходные изменения отмечались в препаратах сердец, изолированных у крыс, получавших тонизид. Разницы по ЧСС, МСР и КДД выявить не удалось (данные не представлены на рисунках).

Однако нам удалось выявить заметные различия между контролем и опытом по величине давления, развиваемого левым желудочком (ДРЛЖ), рис. 3, а. Исходно этот показатель был одинаков в контроле и опыте, однако ситуация радикально менялась после ишемии. На 5-й минуте реперфузии ДРЛЖ изолированного сердца в группе контроля снижалось почти в 5 раз. В этой же временной точке сила сокращений изолированного сердца крыс, получавших тонизид, была почти в 2 раза выше, чем в контроле. Через 30 мин после возобновления коронарной перфузии эта разница между контролем и опытом становилась менее заметной.

В ответ на курсовое введение тонизида во время реперфузии увеличивается не только ДРЛЖ, но и максимальная скорость сокращения миокарда (МСС), рис. 3, б. Особенно заметна разница между контролем и опытом в первые 5 мин после возобновления коронарного протока. В этом случае МСС адаптированного сердца почти в два раза выше скорости сокращения миокарда контрольных животных (рис. 3, б). Логично предположить, что, если инотропный эффект адптогена связан исключительно с увеличением уровня АТФ в кардиомиоцитах, то будет увеличиваться, главным образом, ДРЛЖ при одновременном увеличении скорости расслабления, поскольку оба процесса являются энергозависимыми. Мы же наблюдали одновременное увеличение в два раза силы и скорости сокращения, поэтому уместно предположить, что у подопытных животных, получавших тонизид, саркоплазматический ретикулум быстрее высвобождает Ca^{2+} , чем в клетках контрольной группы.

Курсовое введение тонизида в дозе 400 мг/кг (5 дней) не только предупреждает появление реперфузионной сократительной дисфункции миокарда, но и оказывает кардиопротекторное влияние на ишемизированное сердце. Так, нами установлено, что 35-минутная ишемия и последующая реперфузия приводят к почти 4-кратному увеличению уровня КФК в перфузионном растворе, оттекающем от сердца (рис. 3, в). Реперфузионный подъем содержания КФК в перфузате, оттекающем от адаптированных сердец, был на 25 % ниже, чем в опыте. Этот факт говорит о том, что тонизид предупреждает появление необратимых повреждений в кардиомиоцитах, действуя на уровне миокарда.

Увеличение дозы препарата до 1200 мг/кг (5 дней) привело к исчезновению положительного инотропного и кардиопротекторного эффекта тонизида (результаты не представлены на рисунках), что согласуется с данными наших экспериментов *in vitro* (рис. 1).

Выше мы неоднократно отмечали определенное сходство кардиоваскулярных эффектов экстракта родиолы и тонизида. Однако мы не склонны полагать, что все защитные эффекты тонизида связаны исключительно с присутствием в его составе *Ext. Rhodiolae*. Дело в том, что согласно нашим ранее опубликован-

ными данным [4, 6], экстракт золотого корня оказывает антиаритмический эффект *in vivo* и повышает устойчивость изолированного сердца к действию ишемии-реперфузии при курсовом введении в дозе 2 мл/кг (140 мг/кг сухого экстракта). В нашем же случае доза сухого *Ext. Rhodiolae*, входящего в состав тонизида, составляла всего 4 мг/кг, а при увеличении дозы тонизида до 1200 мг/кг (12 мг/кг родиолы) все защитные эффекты (кроме антифибрилляторного) исчезали. В состав тонизида, помимо, золотого корня входят, экстракт женьшеня и элеутерококка [8]. Однако, согласно литературным данным [1], эти препараты проявляют адаптогенные свойства в дозах, которые в десятки раз превышают 4 мг/кг. По всей видимости, кардиопротекторный, инотропный и антиаритмический эффекты тонизида являются следствием комбинированного действия компонентов, входящих в его состав (родиола, элеутерококк, женьшень, аралия).

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о том, что комплексный растительный препарат тонизид обладает кардиопротекторной и антифибрилляторной активностью. В экспериментах на изолированном сердце показано, что тонизид не влияет на сократимость изолированного миокарда, но ослабляет проявления реперфузионной сократительной дисфункции сердца. Если сопоставить перечисленные эффекты тонизида со свойствами тех препаратов, которые применяются в клинической практике, то просматривается определенное сходство с антиишемическим препаратом триметазидином, который применяется в терапии ИБС. Согласно сведениям, представленным в монографии [7], триметазидин уменьшает соотношение ЗН/ЗР, увеличивает устойчивость изолированного перфузируемого сердца к патогенному действию тотальной ишемии-реперфузии и проявляет антиаритмические свойства при моделировании коронароокклюзии и реперфузии. Следовательно, есть основания предполагать, что тонизид может найти свое место в комплексной терапии ИБС. Однако о подобном применении адптогена речь может идти только после успешной клинической апробации препарата.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований.

ВЫВОДЫ

1. Курсовое введение тонизида (400 мг/кг) в течение 5 дней повышает резистентность сердца к патогенному действию коронароокклюзии и реперфузии *in vivo*, что проявляется, как уменьшение соотношения зона некроза/зона риска.
2. Тонизид при курсовом введении оказывает антифибрилляторный эффект при коронароокклюзии *in vivo*.
3. На модели постинфарктного кардиосклероза тонизид проявляет дозозависимый антифибрилляторный эффект.

4. Курсовое введение тонизида в дозе 400 мг/кг (5 дней) повышает толерантность изолированного перфузируемого сердца к патогенному действию тотальной ишемии-реперфузии, что проявляется, как ослабление реперфузионной сократительной дисфункции миокарда и снижение реперфузионного выброса из сердца креатинкиназы.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. В. Дардымов, Э. И. Хасина, *Элеутерококк: Тайны "панациеи"*, Наука, СПб (1993).
2. Р. Б. Дженнингс, К. А. Реймер, *Метаболизм миокарда. Материалы 2-го советско-американского симпозиума 28 – 30 мая 1975 г. Сочи*, Чазова (ред.), Х. Е. Морган (ред.). Медицина, Москва (1977), сс. 90 – 108.
3. Ю. Б. Лишманов, А. В. Крылатов, Л. Н. Маслов и др., *Бюл. экспер. биол.*, **121**(3), 25690 – 108258 (1996).
4. Ю. Б. Лишманов, А. В. Наумова, С. А. Афанасьев, Л. Н. Маслов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **60**(3), 3490 – 10836 (1997).
5. Н. А. Мазур, А. Абдалла, *Фармакотерапия аритмий*, Оверлей, Москва (1995).
6. Л. Н. Маслов, Ю. Б. Лишманов, Л. А. Маймескулова, Е. А. Краснов, *Бюл. экспер. биол.*, **125**(4), 42490 – 108425 (1998).
7. В. И. Метелица, *Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств*. Изд-во БИ-НОМ, Невский Диалект, Москва — СПб (2002).
8. Свидетельство о государственной регистрации № 77.99.3.У.6.1.05 от 11.01.2005 г.
9. А. С. Сыркин, *Инфаркт миокарда*, Медицинское информационное агентство, Москва (2003).
10. S. L. Hale and R. A. Kloner, *Am. Heart J.*, **116**, 1508 – 1514 (1988).
11. R. B. Jennings and K. A. Reimer, *Stunning, Hibernation, and Preconditioning: Clinical Pathophysiology of Myocardial Ischemia*, G. R. Heyndrickx, S. F. Vatner, W. Wijns (Eds), Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (1997), pp. 83 – 104.
12. L. N. Maslov, Y. B. Lishmanov, N. V. Solenkova, et al., *Life Sci.*, **73**(7), 94783 – 104 952 (2003).
13. D. C. Russell, J. S. Lawrie, R. A. Riemersma, and M. F. Oliver, *Am. J. Cardiol.*, **53**, 307 – 312 (1984).
14. J. E. J. Schultz, Y. Z. Qian, G. J. Gross, and R. C. Kukreja, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **29**, 1055 – 1060 (1997).
15. N. Wang, S. Minatoguchi, Y. Uno, et al., *Am. J. Chin. Med.*, **29**(2), 367 – 375 (2001).

Поступила 04.12.07

COMPLEX ADAPTOGEN DRUG TONIZID ATTENUATES MYOCARDIAL CONTRACTILITY DYSFUNCTION AND PREVENTS THE APPEARANCE OF IRREVERSIBLE CARDIOMYOCYTE DAMAGE DURING ISCHEMIA AND REPERFUSION IN ISOLATED HEART

Yu. B. Lishmanov¹, L. N. Maslov^{1*}, A. G. Arbuzov², A. V. Krylatov¹, A. A. Platonov¹, V. N. Burkova², and E. A. Kayumova³

¹ Laboratory of Experimental Cardiology, Institute of Cardiology, Tomsk Scientific Center, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Kievskaya ul. 111, Tomsk, 634050 Russia;

² Biolit Company, Akademicheskii pr. 3, Tomsk, 634055 Russia;

³ Tomsk State Pedagogical University, Komsomol'skii pr. 75, Tomsk, 634041 Russia;

* E-mail: Maslov@cardio.tsu.ru;

We have studied the new complex plant adaptogen preparation tonizid containing dry extracts of *Aralia mandshurica*, *Panax ginseng*, *Rhodiola rosea*, and *Eleutherococcus senticosus*. The course administration (5 days) of tonizid led to a decrease in the ratio of necrotic zone size/risk area during a 45-min local ischemia and a 2-hr reperfusion in artificially ventilated chloralose anaesthetized rats. This compound decreased the necrotic zone but did not change the size of the risk area. Tonizid also prevented an appearance of ventricular fibrillation during a 45-min coronary artery occlusion, but did not affect the incidence of ventricular arrhythmias during a brief ischemia and reperfusion. In a separate series of experiments, tonizid was administered during 5 days to rats with postinfarction cardiac sclerosis, which was formed 45 days after coronary artery occlusion. In this case, tonizid dose-dependently elevated the ventricular fibrillation threshold. The experiments *in vitro* were performed on a model of 35-min total ischemia and 30-min reperfusion of isolated rat heart using the Langendorff technique. The course administration of tonizid attenuated the reperfusion-induced decrease in the left ventricular pressure and the rate of contraction. However, tonizid did not prevent a reperfusion-induced reduction in the heart rate, a decrease in the rate of relaxation, and an increase in the final diastolic pressure. Tonizid decreased the creatine kinase levels in the venous effluent from isolated rat heart during reperfusion. At the same time, the plant adaptogen did not affect the incidence of ventricular arrhythmias and coronary flow. It is suggested that tonizid can be used as an adaptogen drug attenuating the contractility dysfunction and preventing an appearance of irreversible cardiomyocyte damage during ischemia and reperfusion. Tonizid exhibits cardioprotective and antifibrillatory properties during acute cardiac ischemia/reperfusion and postinfarction cardiac fibrosis.