

УДК 616.617-003.7-085

© А.Б.Батько, Б.К.Комяков, Г.И.Дьячук, С.В.Выходцев, Р.А.Осешнюк

## Экспериментальное обоснование применения блокаторов кальциевых каналов у больных с мочекаменной болезнью

А.Б.БАТЬКО, Б.К.КОМЯКОВ, Г.И.ДЬЯЧУК, С.В.ВЫХОДЦЕВ, Р.А.ОСЕШНЮК

### Experimental justification application of calcium channel-blocking agent on patient with urolithiasis

A.V.BATKO, B.K.KOMYAKOV, G.I.DYACHUK, S.V.VYCHODCEV, R.A.OSESHNYK

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова

Используя анализ эмпирической патогенетической терапии у больных уролитиазом обосновано применение блокаторов кальциевых каналов при указанной патологии. Изучена эффективность включения в комплексную камнеизгоняющую терапию новосинтезированного блокатора кальциевых каналов диуманкала (аналога природных кумаринов). Диуманкал подавляет сократительную активность мочеточника в экспериментальных условиях. Препарат может использоваться для лечения и профилактики уролитиаза; рекомендован для применения по новым показаниям.

*Ключевые слова:* мочекаменная болезнь, блокаторы кальциевых каналов

Using an empirical analysis of pathogenetic therapy of patients with urolithiasis justified the use of calcium channel blockers in this group of patients. An investigation of a new domestic calcium channel-blocking agent Diuamancal (analogues of natural coumarins) was carried out with the purpose to include it into the complex treatment for the stone passage in patients with urolithiasis. The influents of Diuamancal on contractile activity of the ureter was studied in experiments. Diuamancal may be used therapy; preventive maintenance urolithiasis and can be recommended for new indications.

*Key words:* urolithiasis, calcium channel-blocking agent

Мочекаменная болезнь является распространенным заболеванием, частота которого достигает 5,3% среди всех нозологических форм [1]. Лекарственная терапия, направленная на улучшение почечного кровотока и стимуляцию диуреза, способствует восстановлению функции почки и создает условия для отхождения конкремента. Имеющиеся методики не всегда учитывают функциональное состояние верхних мочевых путей (ВМП) у больных МКБ. Миграция конкремента вызывает изменения нормальной сократительной активности мочеточника. Дальнейшее присоединение инфекции, воздействие токсинов на стенку мочеточника приводят к нарушению координированной деятельности ВМП, о чем можно судить по показателям электроуретерограмм [2]. Движение камня по мочеточнику приводит к изменению спонтанной сократительной активности по типу дискинезии [4]. Увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция в клетках мочеточника приводит к гиперполяризации мембраны и повышению порога возбуждения [3]. В связи с тем, что в сократительной деятельности мочеточника принимают участие неоднородные рецепторы, возможны различные методы фармакологической коррекции его активности, в том числе и путем регулирования концентрации внутриклеточного кальция [5]. Широкое применение нашли препараты растительного происхождения. Сведения о применении определенных видов растений для ле-

чения больных с МКБ можно найти в первых фундаментальных трудах по медицине. В «Каноне врачебной науки» Авиценна отметил, что для облегчения отхождения конкрементов из мочевых путей следует применять корни дикого укропа, ажгон, дикий тмин. Армянский целитель Амирдовлат Амасиаци в книге «Ненужное для неучей» также рекомендовал использовать для лечения конкретные растения. Подобные рекомендации встречаются в трудах Гиппократ, монгольских и тибетоязычных трактатах «Дзейцхар мигчжан» и «Дайдурья-онбо». Употребление определенных видов растений в пищевом рационе было эмпирически найденной профилактикой МКБ. Основное применение нашли растения семейства Зонтичных (Umbelliferae). В настоящее время большинство растений этого семейства входят в состав патентованных простых (ависан, келлин, леспеплан, цистиум-солидаго) и комплексных препаратов (цистенал, марелин, фитилизин, цистон, роватинекс, нирон, олиметин), а также лечебных сборов. Фармакологическая активность указанных препаратов связана с наличием в их составе фенольных соединений – производных 9, 10-бензоапирона (кумаринов). Исследования показали, что их спазмолитические эффекты связаны с воздействием на гладкомышечную клетку (ГМК). Кумарины влияют на образование потенциала действия (ПД) за счет снижения фазы медленной деполяризации. Установлено, что механизм миотропного действия связан с блокадой

кальциевых каналов (КК) клеточной мембраны. Полученные данные свидетельствуют о возможности расширения фармакологического арсенала лекарственных средств для консервативной терапии больных МКБ. Учитывая физиологическую роль ионов кальция в сокращении ГМК, перспективными являются исследования блокаторов кальциевых каналов (БКК) на сократительную активность ВМП.

### Материалы и методы

Исследования проведены на 23 препаратах мочеточников. Всего выполнено 134 измерения. Экспериментальным материалом служили изолированные отрезки верхней трети мочеточников кролика с учетом их деформационно-прочностных свойств. Длина препарата составляла в среднем 8-10 мм, что определялось размерами рабочей камеры механотрона. Лабораторных животных умерщвляли путем воздушной эмболизации. Мочеточники извлекали из брюшной полости и помещали в аэрированный охлажденный (+4 – +6°C) раствор Кребса. В исследовании применяли диодный механотрон «БМХ1С», сократительную активность регистрировали с помощью самопишущего прибора «Н303/8». Силу мышечных сокращений при различных концентрациях исследуемых веществ нормировали по отношению к исходному уровню в процентах. За 100% принимали исходную силу спонтанного сокращения мочеточника в растворе Кребса. Измеряли силу тонической реакции (мН), а также ее длительность (сек.). Для определения эффективности действия БКК на сократительную активность мочеточника исследовали изменение силы сокращения в диапазоне концентраций от  $10^{-9}$  М до  $10^{-5}$  М. В работе исследовали БКК – производные динидропиридина и фенилалкиламина, и диуманкал (7,7'-этилендиоксипиран-2,2'-дион). Диуманкал – отечественный БКК, разработан на кафедре фармакологии СПбГМА им. И.И. Мечникова Росздрава, запатентован и разрешен к применению в медицинской практике Фармакологическим Государственным комитетом МЗ РФ (приказ МЗ РФ №202 от 14.07.97). Механизм действия связан с блокадой специфических дигидропиридиновых рецепторов потенциалуправляемых КК клеточной мембраны. Осо-

бенностью диуманкала по сравнению с другими БКК является высокая его активность (30 мг/сут) при низкой токсичности (LD50 – 2500 мг/кг).

### Результаты и их обсуждение

Первоначально действие различных фармакологических средств на сократительную активность ГМК мочеточника было изучено в эквимольных концентрациях (табл. 1).

Средняя сила тонической реакции снижалась под влиянием всех исследуемых препаратов (кроме ацетилхолина). По силе действия на тоническую реакцию мочеточника препараты распределились в следующей последовательности: атропин > папаверин > диуманкал > нифедипин > изоптин. Длительность тонической реакции изменялась под воздействием атропина через 5 сек ( $p < 0,05$ ) и не восстанавливалась больше 1 часа. БКК в исследуемой концентрации увеличивали длительность тонической реакции: нифедипин на 13% ( $p < 0,05$ ), диуманкал на 33% ( $p < 0,05$ ) и изоптин на 11%. Действие папаверина характеризовалось длительным периодом, а изменения тонической реакции регистрировались через 25 сек после воздействия. Все БКК угнетали спонтанную фазную и тоническую реакции ГМК мочеточника. Однако, сравнительные исследования влияния БКК на активность ГМК показали, что только диуманкал в сравнительно низких концентрациях ( $10^{-6}$  М) достоверно влияет на моторику ВМП и является наиболее эффективным фармакологическим соединением в ряду исследованных веществ. Учитывая выраженный эффект диуманкала на сократительную активность мочеточника, представлялось интересным выявить влияние различных его концентраций на ГМК. Диуманкал в концентрации  $10^{-9}$  моль/л не оказывает выраженного влияния на спонтанную активность. Увеличение концентрации до  $10^{-8}$  моль/л приводило к снижению амплитуды фазных сокращений в среднем более чем в 2 раза, а при увеличении концентрации препарата до  $10^{-7}$  моль/л амплитуда сокращений еще более снижалась, составляя в среднем 30% от исходной величины. Действие возрастающих концентраций диуманкала на силу сокращения мочеточника приведено на рис. 1.

Таблица 1

#### Сравнительное влияние исследуемых веществ на тоническую реакцию мочеточника

Препарат	Концентрация (М/л)	Ср. сила тонич. реакции (мН)	Ср. длит. тонич. реакции (с)
Р-р Кребса	-	0,9	15,0
Ацетилхолин	$1,19 \times 10^{-6}$	1,13*	10,0*
Диуманкал	$1,0 \times 10^{-6}$	0,21*	20,0*
Нифедипин	$1,38 \times 10^{-6}$	0,23*	17,1
Изоптин	$5,1 \times 10^{-5}$	0,26	16,2
Атропин	$1,25 \times 10^{-6}$	0,17*	5,9*
Папаверин	$2,7 \times 10^{-6}$	0,19*	25,0*

Примечание: \* –  $p < 0,05$ .

Для определения эффективности действия различных БКК на сократительную активность мочеоточника исследована сила сокращения в диапазоне концентраций от  $10^{-9}$  М/л до  $10^{-5}$  М/л. В каждом эксперименте исследовали динамику восстановления тонической реакции мочеоточника при его отмывании раствором Кребса (табл. 2)

Статистически достоверные изменения показателей сократительной активности ГМК мочеоточника произошли при действии диуманкала в концентрации  $10^{-7}$  моль/л. Раствор в концентрации  $10^{-9}$  М/л в течение 20 минут приводил силу автоматического сокращения к новому уровню моторики на 12% ниже исходного. При действии диуманкала в концентрации  $10^{-8}$  М/л в течение 20 минут сила сокращения практически не изменялась. Последующие концентрации диуманкала в большей степени уменьшали амплитуду фазного сокращения. При концентрации раствора  $10^{-7}$  М/л произошло статистически достоверное, по сравнению с предыдущим уровнем, сокращение сократительной активности мочеоточника на 43% ( $p=0,05$ ). Аналогичная тенденция прослеживалась и при более высоких концентрациях раствора: при концентрации  $10^{-6}$  М/л амплитуда сокращения уменьшилась на 76,5 % ( $p=0,05$ ), а при  $10^{-5}$  М/л – на 94,4% ( $p=0,08$ ). В некоторых экспериментах при действии диуманкала в концентрации  $10^{-5}$  М/л наблюдалось практически полное подавление силы фазных сокращений и резкое снижение тонической реакции. Наши данные согласуются с ранее проведенными исследованиями, которые показали, что в этой концентрации диуманкал обратимо подавляет сократительную и биоэлектрическую активность воротной вены крыс. Отмывание препарата раствором Кребса не восстанавливало тоническую реакцию. Вместе с тем, изучение характера влияния диуманкала на фазную сократительную активность мочеоточника показало, что он в концентрации  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  М/л действовал обратимо, т. е. его спонтанная сократительная активность восстанавливалась при отмывании раствором Кребса.



Рис. 1. Влияние различных концентраций диуманкала на сократительную активность изолированного участка мочеоточника кролика.

Удаление изучаемых веществ из омывающего раствора приводило к медленному восстановлению тонуса и появлению на 5-6 минутах отмывания редких одиночных спонтанных фазных сокращений такой же амплитуды, что и до воздействия. С течением времени ритм спонтанных сокращений возрастал, но так и не достигал исходного даже на протяжении 1 часа после воздействия препаратов.

Аналогичным образом исследовали действие других БКК, а также препаратов сравнения (атропина и папаверина) на сократительную активность мочеоточника. Характер действия нифедипина аналогичен с диуманкалом. В сравнительно низком диапазоне исследованных концентраций сила сокращения уменьшалась незначительно, что было статистически недостоверно ( $p=0,471$ ). При более высоких концентрациях раствора, начиная с  $10^{-7}$  М/л, наблюдали выраженное подавление силы сокращения по сравнению с предыдущими уровнями, и это было статистически достоверно. Максимальный эффект имел место при использовании нифедипина в концентрации  $10^{-5}$  М/л. Изоптин первоначально снижал силу сокращений незначительно и эти изменения были статистически недостоверны. В более высоких концентрациях практически все БКК действовали предсказуемо, однако двигательная активность мочеоточника оставалась более высокой, чем при использовании диуманкала и нифедипина.

Таблица 2

**Влияние исследованных веществ на сократительную активность мочеоточника кролика (в процентах к исходному уровню)**

Вещества	Концентрация веществ (М)								
	$10^{-9}$	$10^{-8}$	p	$10^{-7}$	p	$10^{-6}$	p	$10^{-5}$	p
Диуманкал	87,8 n=6	83,5 n=7	0,23	62,6 n=7	0,005	23,5 n=8	0,005	5,6 n=7	0,01
Нифедипин	87,2 n=6	84,2 n=7	0,47	68,3 n=6	0,005	26,1 n=7	0,005	7,6 n=7	0,005
Изоптин	87,2 n=5	84,6 n=6	0,35	67,4 n=6	0,075	28,8 n=7	0,005	7,8 n=6	0,005
Атропин	85,2 n=5	80,1 n=7	0,08	60,1 n=7	0,005	18,4 n=7	0,005	3,1 n=6	0,005
Папаверин	87,5 n=6	85,1 n=7	0,19	64,5 n=6	0,002	21,4 n=8	0,005	5,2 n=7	0,002

Действие атропина отличалось от нифедипина и дилтиазема тем, что быстро подавлялся тонический компонент сокращения. Папаверин действовал аналогично атропину, при этом отмечали более медленное снижение амплитуды тонических сокращений ГМК мочеточника..

### **Вывод**

Все БКК изменяют силу автоматического сокращения ГМК мочеточника. Проведенные экспери-

ментальные исследования показали, во-первых, то, что терапевтическая доза лекарственных препаратов, необходимая для торможения сократительной активности мочеточника, прямо пропорциональна степени этой активности, т. е. чем выше сократительная активность мочеточника, тем больше должна быть создаваемая концентрация. Во-вторых, эти результаты позволяют рекомендовать БКК для уменьшения сократительной активности мочеточника, т. е. включать его в комплексную терапию больных МКБ.

### **Список литературы**

1. *Аполихин О.И., Какорина Е.П., Сивков А.В., Бешлиев Д.А., Солнцева Т.В., Комарова В.А.* Состояние урологической заболеваемости в Российской Федерации по данным официальной статистики. Урология. 2008; 3: 3-10.
2. *Бакунц С.А.* Вопросы физиологии мочеточников. Л. 1970; 147.
3. *Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С.* Механизмы внутриклеточной сигнализации. СПб. 2003: 112-153.
4. *Ходырев Л.А., Мудрая И.С.* Уродинамика верхних мочевыводящих путей у больных мочекаменной болезнью и хроническим пиелонефритом. Урология 2007; 2: 16-21
5. *Berridge M.J., Bootman M.D., Lipp P.* Calcium – a life and death signal. Nature 1998; 395: 645-648.

Поступила 27.06.10 г.

### **Информация об авторах**

1. Батько Андрей Борисович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры урологии Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова, заместитель главного врача КДП по лечебной работе; e-mail: abb69@mail.ru
2. Комяков Борис Кириллович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова; e-mail: komukovbk@gmail.com
3. Дьячук Георгий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова; e-mail: pharma@mail.ru
4. Выходцев Сергей Владимирович – кандидат медицинских наук, врач-уролог клинической базы кафедры урологии Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова; e-mail: zerge@mail.ru
5. Осешнюк Родион Александрович – клинический фармаколог, аспирант кафедры фармакологии Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова; e-mail: gao81@mail.ru