

ВПЛИВ ПОХІДНИХ КРАУН-ЕФІРІВ НА БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ В МІОКАРДІ

*I.V. Ніженковська, д.мед.н., професор, О.І. Ніженковський,
К.Ю. Філіпова, *Н.Є. Чумак, ст.н.с.*

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

** Інститут екогігієни і токсикології ім. Л.І. Медведя МОЗ України, м. Київ*

РЕЗЮМЕ. *Встановлено, що за умов експериментальної токсичної антрациклінової кардіоміопатії розвивається суттєве порушення біоенергетичних процесів, що проявляється зниженням вмісту нікотинамідних коферментів, резервів метаболічної енергії та макроергічних сполук. Похідне урацилу карбіцил при введенні експериментальним тваринам з антрацикліновою кардіоміопатією значною мірою зменшує вираженість порушень енергетичного обміну та корегує стан окисно-відновних процесів у серцевому м'язі.*

Ключові слова: міокард, токсична антрациклінова кардіоміопатія, біоенергетичні процеси, похідне краун-ефірів.

РЕЗЮМЕ. *Установлено, что в условиях экспериментальной токсической антрациклиновой кардиомиопатии развивается существенное нарушение биоэнергетических процессов, которые проявляются снижением содержания никотинамидных коферментов, резервов метаболической энергии и макроергических соединений. Производное урацила карбицил при введении экспериментальным животным с антрациклиновой кардиомиопатией в значительной степени уменьшает выраженность нарушений энергетического обмена и корректирует состояние окислительно-восстановительных процессов в сердечной мышце.*

Ключевые слова: миокард, токсическая антрациклиновая кардиомиопатия, биоэнергетические процессы, производные краун-эфиров.

SUMMARY. *Development of the essential disturbs of the bioenergetical processes which are showing by the lower of content of the nicotinoamid's co-ferments, reserves of the metabolic energy and macroergetic compounds at the conditions of experimental toxic antraciclinc cardiomyopathy was establish. Derivative of uracile carbacyl with essential level decreases of the expressive of disturbs of energetically change and corrects of condition of oxidation-hydration processes at the heart muscle during the introduction to the experimental animals with antraciclinc cardiomyopathy.*

Key words: myocard, toxic antraciclinc cardiomyopathy, bioenergetical processes, crown-ethers derivatives

З захворювання серцево — судинної системи продовжують посідати провідне місце серед причин смертності населення у більшості індустріальних країн світу [1]. Значну роль серед причин серцевої недостатності відіграють кардіоміопатії, зумовлені різними токсичними чинниками, що спричиняють стан оксидантного стресу в цілісному організмі [2], у тому числі дією лікарських засобів, зокрема антибіотиків антрациклінового ряду, антиметаболітних препаратів протипухлинної дії [3]. Разом з тим, незважаючи на численні дослідження, біохімічні та молекулярні механізми порушення скоротливої діяльності кардіоміоцитів та її енергозабезпечення за умов серцевої недостатності залишаються недостатньо вивчені [4], становлячи одну з актуальних проблем медицини. Існуючі літературні дані свідчать про доцільність пошуку та вивчення механізмів дії нових серцево — судинних лікарських засобів кардіопротекторної дії серед аналогів природних метаболітів — амінокислот, нуклеотидів, фізіологічно активних азотвмісних гетероциклічних сполук. Значний інтерес для практичного застосування в кардіології викликає клас макроциклічних поліефірів, представники якого мають високу біологічну активність завдяки своїм унікальним комплексоутворюючим властивостям і подібностям до іонофорних антибіотиків [5]. Тому вважалося слушним вив-

чити вплив на біоенергетичні процеси в міокарді нових похідних класу краун — ефірів у порівнянні з відомими еталонними кардіотоніками.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

1. Провести дослідження метаболічних порушень — обміну нікотинамідних коферментів та макроергічних сполук — аденілових нуклеотидів, креатинфосфату та ферментів їх метаболізму в тканині міокарда за умов токсичної антрациклінової кардіоміопатії (ТАК).
2. Вивчити вплив на біоенергетичні процеси в міокарді тварин з ТАК нової фізіологічно активної сполуки (ФАС) метаболічної дії, зокрема похідного урацилу (карбіцилу) порівняно з кардіотоніками інших фармакологічних класів.

Матеріали й методи досліджень. Об'єкти й моделі дослідження. Основні серії експериментальних досліджень проведені на дорослих білих щурах лінії Вістар та кролях, які утримувалися у віварії Національного медичного університету імені О.О.Богомольця. Утримання та досліди на тваринах проводили відповідно до правил "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986). Експериментальну серцеву недостатність моделювали в дослідах на щурах — самцях шляхом щотижневого внутрішньом'язового введення рубоміцину гідрохлориду

в дозі 5 мг на кг маси тіла протягом 5 тижнів. Застосовували такі препарати: Рубоміцину гідрохлорид ("Мосмедпрепарати" ім. Л.Я. Карпова), Даунорубіцин (рубоміцину гідрохлорид) виробництва АТ Ферейн, РФ).

Біохімічні методи дослідження метаболітів та ферментів. Визначення вмісту в тканинах міокарда та печінки окиснених (НАД⁺, НАДФ⁺) та відновлених форм (НАДН, НАДФН) нікотинамідних коферментів проводили флуорометричним методом, активності НАД-гідролізуючих ферментів вимірювали за швидкістю гідролізу НАД⁺ [6]. Визначення вмісту аденилових нуклеотидів проводили електрофоретичним методом з наступною спектрофотометрією при довжині хвилі 260 та 290 нм. Вміст креатинфосфату (КрФ) оцінювали як різницю між загальним і вільним креатином, який визначили спектрофотометричним методом при довжині хвилі 525 нм, глікогену — за допомогою антронового реактиву, активність креатинфосфаткінази (КФК) — за утворенням вільного креатину при інкубації з КрФ.

Результати і обговорення. Порушення біоенергетичних процесів у клітинах міокарда за умов експериментальної кардіоміопатії були виявлені в багатьох дослідженнях [7]. Разом з тим, детальних досліджень клітинної біоенергетики в міокарді за умов експериментального моделювання ТАК введенням кардіотоксичного антибіотика рубоміцину раніше не проводилося, що і стало об'єктом наших досліджень. Проведеними дослідженнями було встановле-

но, що введення шурам рубоміцину гідрохлориду призводить до суттєвого порушення реакцій біологічного окислення та постачання енергетичних субстратів у кардіоміоцитах, про що свідчать негативні зміни в концентрації та катаболізми нікотинамідних коферментів НАД⁺ і НАДФ⁺, різке падіння вмісту КрФ та глікогену (в 2,81 раза та 2,29 раза відповідно) та суттєве (на 75,3 %) зниження активності КФК (табл.1).

На тлі ушкодження окислювальних процесів та зниження вмісту в кардіоміоцитах КрФ, що є резервом для відновлення макроенергічних фосфатів в результаті функціонування креатинфосфокіназної реакції [8], в міокарді шурів спостерігалось значне зниження потенціалу фосфорилування та фонду АТФ, необхідного для здійснення скорочувальної функції актоміозинових комплексів міофібрил (табл.2)

Для оцінки кардіопротекторних ефектів досліджуваного метаболітного ФАС карбіцилу порівняно з β — адреноміметиком добутаміном було проведено дослідження впливу зазначених ФАС на показники обміну нікотинамідних коферментів, вміст аденилових нуклеотидів, глікогену та стан креатинфосфокіназної системи в умовах моделювання токсичної серцевої недостатності рубоміцином. Як видно з результатів, наведених на рис.1, у шурів, яким на тлі рубоміцину гідрохлориду вводили карбіцил, в кардіоміоцитах підвищувався на 24,9 % вміст окиснених форм

Таблиця 1

Зміни показників енергетичного обміну в міокарді шурів за ТАК, модельованої введенням рубоміцину (M±m)

Біоенергетичний показник	Контроль	Рубоміцин
НАД ⁺ + НАДФ ⁺ , мкмоль/кг тканини	483±7	365±7*
НАД ⁺ + НАДФ ⁺ +НАДН + НАДФН, мкмоль/кг тканини	820±14	764±7*
Коефіцієнт окиснені/відновлені піридиннуклеотиди	1,43±0,04	0,92±0,02*
НАД-гідралазу, мкмоль/кг·год	2615±84	3589±86*
КрФ, мкмоль/г тканини	3,94±0,88	1,40±0,20*
КрФ, мкмоль/г тканини·хв	5,75±0,22	3,28±0,24*
Глікоген, мг/кг тканини	218±13	95±8*

Таблиця 2

Вміст аденилових нуклеотидів (ммоль/кг тканини) в міокарді шурів за експериментальної ТАК (M±m)

Нуклеозидфосфати	Контроль	Рубоміцин
АТФ	2,04±0,07	1,44±0,03*
АДФ	1,38±0,08	1,17±0,02*
АМФ	0,89±0,06	1,36±0,08*
АТФ/АДФ	1,47±0,05	1,23±0,09*
Потенціал фосфорилування	063±0,04	0,51±0,04*

нікотинамідних коферментів, коефіцієнт окиснені/відновлені піридиннуклеотида зростає за дії карбіцилу на 36,9 %, загальна сума коферментів також зросла. Активність НАД-гідролази за умов експерименту нормалізувалась.

Вплив карбіцилу та добутаміну на показники обміну аденолових нуклеотидів в міокарді

щурів при ТАК, зумовлений рубоміцином, представлений на рис.2

Як видно з отриманих даних, система аденолових нуклеотидів теж зазнає менших зрушень в міокарді тварин, які отримували рубоміцин разом з карбіцилом. Було встановлено, що система аденолових нуклеотидів зазнає

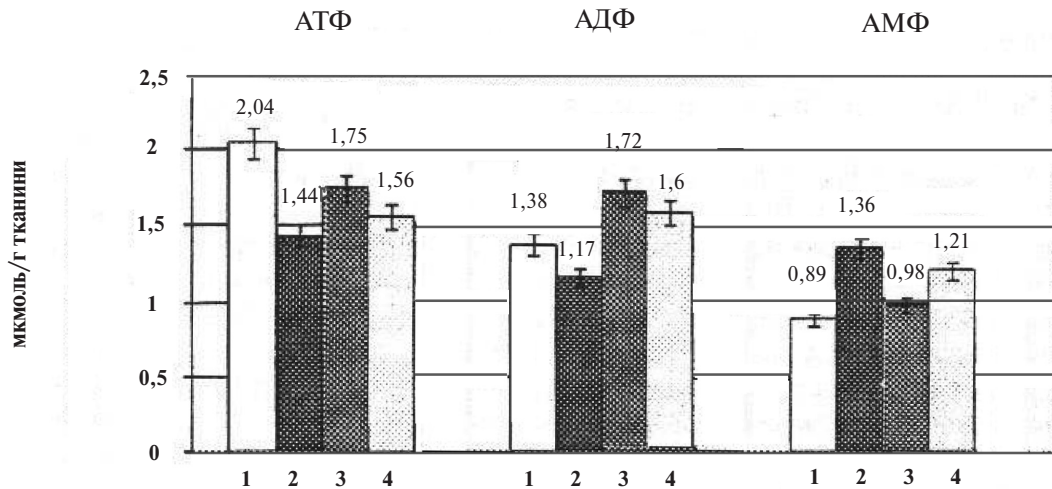
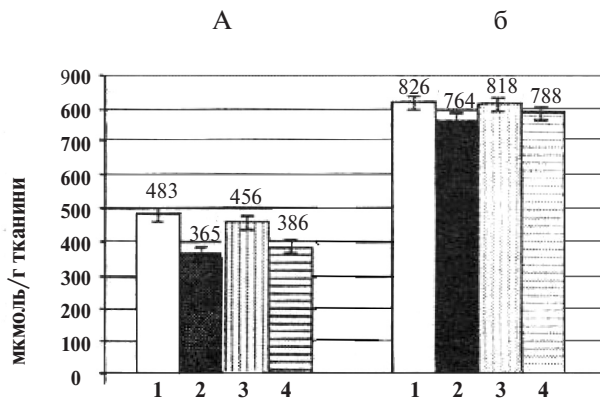


Рис.1 Вплив кардіотоніків метаболічної дії порівняно з добутаміном на суму НАД⁺+НАДФ⁺ (А) і загальний вміст окиснених та відновлених піридиннуклеотидів (В) в міокарді щурів за експериментальної ТАК



Групи експериментальних тварин

- 1 — контроль
- 2 — рубоміцин
- 3 — рубоміцин + карбіцил
- 4 — рубоміцин + добутамін

менших негативних зрушень і в умовах введення щурам, отруєних рубоміцином, метаболітного препарату карбіцилу — вміст АТФ зростає на 21,5%, потенціал фосфорилування збільшувався на 13,7%, рівень АМФ відповідно зменшувався на 28%, а вміст Р_{неорг.} наближався до величин у контрольній групі.

Як зазначено вище, важливими біохімічними компонентами кардіоміоцитів, резерви яких за експериментальної ТАК суттєво зменшуються, є глікоген та КрФ, що за дії ізоферментів КФК функціонує як транспортер в реакціях синтезу АТФ. Результати вивчення впливу метаболітного препарату карбіцилу порівняно з β-адреноміметиком добутаміном на вміст глікогену, КрФ та активність КФК в міокарді щурів при ТАК, зумовлений рубоміцином, представлені в табл.3.

Таблиця 3

Вплив карбіцилу на вміст КрФ і глікогену та активність КФК в міокарді щурів за експериментальної ТАК (M±m)

Умови експерименту	КрФ, ммоль/г тканини	КФК, ммоль КрФ/г?хв.	Глікоген, мг/кг
Контроль	3,94±0,88	5,75±0,22	218,2±13,1
Рубоміцин	1,40±0,20*	3,28±0,24*	95,2±8*
Рубоміцин + карбіцил	3,32±0,68**	4,72±0,32**	192,1±12,5**
Рубоміцин + добутамін	1,90±0,54*	2,66±0,46*	98,3±11,2**

Заключення. В умовах введення карбіцилу спричинене рубоміцином зниження в міокарді концентрації як глікогену, так і КрФ, виявляється значно менше вираженим. Зокрема, рівень глікогену в серцевому м'язі тварин, що отримували карбіцил на тлі ушкодження рубоміцином, перевищував відповідні значення у щурів з введенням рубоміцину без метаболічних препаратів на 102%, наближаючись до контрольних величин. Подібна значна протективна дія карбіцилу виявлена і стосовно концентрації КрФ та активності КФК в міокарді щурів з ушкодженням рубоміцином. Підсумовуючи вище наведене, необхідно відзначити, що у сполуках метаболічної природи, що вивчаються, кардіотонічну активність має карбіцил [9]. Він суттєво активує процеси енергоутворення та інтенсивність енергетичного обміну в міокарді інтактних тварин, також значною мірою нормалізує порушення в системі макроергічних фосфатів та нікотинамідних коферментів при рубоміциновій ТАК. Значне покращення показників енергетичного обміну міокарда за впливові карбіцилу, ймовірно, можна віднести за рахунок близькості його хімічної будови до піримідинових основ, які завдяки впливу на синтез

нуклеїнових кислот та інших регуляторних молекул мають змогу впливати на пластичні процеси в клітинах і на спряжені з ними процеси енергоутворення.

Висновки

1. У результаті проведених наукових досліджень вивчено біохімічні механізми порушень біоенергетичних процесів у кардіоміоцитах за умов доксорубіцинової ТАК, що проявляються порушеннями окислювальних процесів в мітохондріях, зменшенням вмісту в кардіоміоцитах резервів метаболічної енергії та макроергічних сполук — глікогену, креатин фосфату, АТФ та АДФ, які є біохімічним субстратом порушення в умовах СН енергозабезпечення скорочувального актоміозинового апарату міофібрил.
2. Вперше встановлено, що метаболітний кардіотонік похідне краун-ефірів карбіцил при введенні щурам з рубоміциновою кардіоміопатією значно нормалізує стан окисно-відновних процесів у міокарді, а також ультраструктуру мітохондрій, зменшує вираженість порушень енергетичного обміну в кардіоміоцитах, підвищує вміст окиснених форм коферментів НАД⁺ та НАДФ⁺, збільшує рівень АТФ, КрФ, глікогену.

ЛІТЕРАТУРА

1. Здоров'я та охорона здоров'я населення України: європейський вимір [Атлас] / за ред. В.Ф. Москаленка, — К.: 2009 — 240 с.
2. Губский Ю.И. Токсическая гибель клетки: свободно-радикальное повреждение ДНК и апоптоз / Ю.И. Губский // Лікування та діагностика. — 2001. — № 4. — С.8-13.
3. Ватутин Н.Т. Профилактика кардиальных осложнений, вызванных применением противоопухолевых антибиотиков антрациклинового ряда / Н.Т. Ватутин, Н.В. Калинкина, Е.В. Катинг // Укр. хіміотерап. журнал, 1999. — Т.2 — №32. — С.11—17.
4. Нейко Є.М. Внутрішні хвороби / Є.М. Нейко, В.І. Боцюрко, — К.: Здоров'я, 1998. — 528 с.
5. Синкай С. Новые достижения в химии переключаемых краун-эфиров и перспективы их развития / С. Синкай // Журнал Всесоюз. химич. общества им. Д.И. Менделеева, 1985. — Т. 30. — № 5. — С. 546—555.
6. Телепнева В.И. Ферментативное превращение НАД в клеточных фракциях скелетных мышц в норме и при денервации / В.И. Телепнева, И.В. Исаева // Вопр. мед. химии, 1967. — №13. — С.242-247.
7. Експериментальне вивчення нових кардіотонічних засобів / [Чекман І.С., Мохарт М.А., Горчакова Н.О. та інші.]; за ред. О.В. Стефанова // Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації / Київ, 2001 — С.223—239
8. Сакс В.А. Фосфокреатиновый путь внутриклеточного транспорта энергии: современное состояние исследования / В.А. Сакс // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. — Москва, 1989. — С.11-19.
9. Ніженковська І.В. Біохімічні та мембранні механізми ушкодження міокарда за експериментальної серцевої недостатності та її корекції фізіологічно активними сполуками метаболічної дії: автореферат дис. на здобуття наук. ступ. док. мед. наук: спец. 14.01.32 "Медицина біохімія" / І.В. Ніженковська. — Київ, 2009. — 40 с.

Надійшла до редакції 29.04.2011 р.