

УДК 615.22'547.857-047.37

К. В. АЛЕКСАНДРОВА, С. В. ЛЕВІЧ, О. Б. МАКОЇД

Запорізький державний медичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕНЕРГОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОХІДНОГО КСАНТИНУ АЛ-12 – ПОТЕНЦІЙНОГО КАРДІОПРОТЕКТОРА

Представлені результати експериментального дослідження впливу похідного ксантину АЛ-12 на енергетичний стан кардіоміоцитів тварин з інфарктом міокарда. В якості еталонного препарату був використаний мілдронат.

Ключові слова: похідні ксантину; інфаркт міокарда; енерготропна дія

ВСТУП

Метаболічний синдром (МС) є фактором ризику розвитку ішемічної хвороби серця. Велика увага лікарів-клініцистів різних спеціальностей до МС зумовлена високою розповсюдженістю, багатокомпонентністю даного синдрому, а також зростаючим ризиком розвитку серцево-судинних захворювань. У теперішній час проводяться клінічні дослідження, які демонструють високу розповсюдженість МС серед хворих на інфаркт міокарда (ІМ) [7, 9, 10, 11]. Так, при вивченні впливу МС на прогноз ІМ встановлено, що наявність метаболічного синдрому достовірно збільшує ризик розвитку смертельного випадку на 29 % [10].

В умовах гострого інфаркту міокарда на фоні метаболічного синдрому спостерігається зниження активності антиоксидантної системи захисту кардіоміоциту та накопичення активних форм кисню, що призводить до інгібування дихального ланцюга мітохондрії і, як наслідок, до зниження синтезу і вивільнення запасів АТФ, пригнічення аеробного синтезу енергії, енергозалежних функцій і метаболізму клітин [8].

Недивлячись на досить широкий спектр кардіопротекторів [2], у теперішній час існує потреба в нових препаратах з вираженим енерготропним ефектом, які б гальмували прояви мітохондріальної дисфункції та нормалізували дисбаланс пулу аденілнуклеотидів. Перспективними в цьому аспекті є різноманітні похідні ксантину [1, 6]. В минулих роботах нами були показані кардіопротективні властивості похідного ксантину АЛ-12 [5], в продовженні цих досліджень необхідно було вивчити його вплив на показники енергетичного обміну в кардіоміоцитах на фоні ІМ.

Метою даної роботи було вивчення енерготропних властивостей нового похідного ксантину АЛ-12 на фоні гострого інфаркту міокарда у щурів у порівнянні з референс-препаратом – мілдронатом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди виконані на 30 щурах лінії Вістар масою 190-210 г, отриманих з віварію Інституту фармакології та токсикології НАМН України. Тривалість карантину (періоду акліматизації) для всіх тварин складала 14 днів. Дослідження проводили на моделі дрібновогнищезового гострого ІМ у щурів, який моделювали поетапним введенням ізадрину та пітуїтрину за схемою: пітуїтрин – внутрішньоочеревинно 0,5 од/кг, через 20 хв ізадрин – підшкірно 100 мг/кг. Через 6 год ін'єкція ізадрину повторювалась та через 24 год обидва агенти вводились у тих же самих дозах. Тварин виводили з експерименту через 60 хв після останньої ін'єкції ізадрину під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Паралельно з формуванням ІМ вводили досліджувану речовину внутрішньоочеревинно у вигляді суспензії з Твіном-80 тричі в дозі 100 мг/кг протягом доби за 30 хв до ін'єкції пітуїтрину та ізадрину. Референс-препарат (мілдронат) вводили у біоеквівалентній дозі – 100 мг/кг.

Вміст аденілових нуклеотидів визначали в гомогенаті кардіоміоцитів, який одержували за нижченаведеною методикою.

Тканини серця гомогенізувались на холоді у сольовому ізотонічному середовищі (0,15 М КСІ) при температурі +4 °С за допомогою скляного гомогенізатора у співвідношенні тканина-сольовий розчин (1:20). Безбілковий екстракт отримували додаванням точної наважки гомогенату тканини серця у перхлоратну кислоту (0,6 М) з наступною нейтралізацією 5,0 М калію карбонатом [4].

© Александрова К. В., Левіч С. В., Макоїд О. Б., 2015

Аденілові нуклеотиди визначали методом тонкошарової хроматографії [4]. Метод базується на розділенні АТФ, АДФ та АМФ у системі діоксан-пропан-2-ол-вода-аміак (4 : 2 : 4 : 1) у тонкому шарі сорбенту з наступним кількісним визначенням методом прямої спектрофотометрії при 260 нм.

Для поглибленого аналізу стану енергозабезпечення кардіоміоцитів в умовах ІМ нами були розраховані такі показники енергетичного обміну: енергетичний заряд (ЕЗ), енергетичний потенціал (ЕП), коефіцієнт порівняння (КП), індекс фосфорилування (ІФ) та показник термодинамічного контролю дихання (ТКД) [3].

Результати дослідження оброблені з використанням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA®forWindows 6.0». Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk (W). Для всіх видів аналізу статистично вагомими вважали відмінності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У контрольній групі щурів, які не отримували терапії, спостерігався дисбаланс пулу макроергічних фосфатів у тканинах серця (табл. 1).

У тканинах серця відмічалось підвищення рівня АМФ на 83,3 % на фоні зниження рівня АДФ на 47,2 %. Зменшення вмісту АТФ на 37,2 % пояснюється його посиленням розпадом в умовах ішемії, що супроводжує ІМ. Введення досліджуваного похідного ксантину привело до нормалізації вмісту аденілових нуклеотидів – до підвищення рівня АТФ на 38,4 % та до зниження концентрації АМФ на 45,5 %, що є прооксидантом. У дії мілдронату простежувався схожий за спрямуванням, проте менш виражений ефект.

Поглиблений аналіз стану енергозабезпечення показав, що гострий ІМ призводить до зниження інтенсивності та ефективності фосфорилування аденілнуклеотидної системи (табл. 2).

Показник ЕП в контрольній групі збільшувався на 18,9 %, що свідчить про активацію дихального ланцюга мітохондрій та корелює зі змінами вмісту компонентів аденілнуклеотидів. Введення похідного ксантину та мілдронату привело до зниження ЕП до рівня інтакту і нижче, що пояснюється стабілізуючим впливом досліджуваних речовин на мітохондріальне дихання.

Таблиця 1

ВПЛИВ СПОЛУКИ АЛ-12 НА ВМІСТ АДЕНІЛОВИХ НУКЛЕОТИДІВ У КАРДІОМІОЦИТАХ ТВАРИН З ІНФАРКТОМ МІОКАРДА

Група тварин	АТФ, мкмоль/г тканини	АДФ, мкмоль/г тканини	АМФ, мкмоль/г тканини
Інтакт	2,82 ± 0,12	0,61 ± 0,005	0,12 ± 0,003
Контроль	1,77 ± 0,08	0,322 ± 0,003	0,22 ± 0,002
АЛ-12	2,45 ± 0,05*	0,517 ± 0,003*	0,12 ± 0,02
Мексидол	2,32 ± 0,11*	0,507 ± 0,005*	0,14 ± 0,011*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ по відношенню до контролю.

Аналогічні зміни були відзначені і при аналізі показника КП. В контрольній групі показник КП збільшувався на 28,2 %. Це пояснюється зростанням рівня АМФ та переважанням прямої реакції перетворення АДФ над зворотною. Введення сполуки АЛ-12 та мілдронату зменшувало рівень КП на 21,5 % та 19,5 % відповідно.

Вивчення ЕЗ показало його зменшення в групі тварин, яких не лікували, в порівнянні з інтактною групою. Такі зміни ЕЗ відображають зниження ступеня заповнення макроергічними зв'язками системи АТФ-АДФ-АМФ. На фоні використання похідного ксантину відмічалось збільшення ЕЗ до рівня інтактних тварин. Введення мілдронату збільшувало показник енергетичного заряду, проте менш виражено, ніж АЛ-12.

Дослідження показника ІФ дозволило встановити порушення співвідношення між АТФ та пулом АДФ-АМФ у контрольній групі тварин з ІМ (зниження ІФ на 15,5 %). У кардіоміоцитах щурів, які одержували сполуку АЛ-12, цей показник значно збільшувався, що вказує на корекцію дисбалансу співвідношення окремих макроергічних фосфатів. Слід зазначити, що стабілізуючий вплив на показники ІФ похідного ксантину перевищував за силою ефект мілдронату.

Показник ТКД у контрольній групі був нижчий більш ніж у 3 рази. На фоні введення мілдронату відмічалось збільшення ТКД на 147,5 %, але порівняно з інтактним показником зберігається його зниження в 1,4 рази. Введення сполуки АЛ-12 збільшувало ТКД до 84 % від показників інтакту, що на 18,9 % перевищує ефект мілдронату.

Таблиця 2

ВПЛИВ СПОЛУКИ АЛ-12 НА ПОКАЗНИКИ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ В КАРДІОМІОЦИТАХ ТВАРИН ПІСЛЯ ІНФАРКТУ МІОКАРДА

Група тварин	ЕП	КП	ЕЗ	ІФ	ТКД
Інтакт	4,622 ± 0,176	4,819 ± 0,182	0,880 ± 0,005	3,863 ± 0,159	5,083 ± 0,113
Контроль	5,496 ± 0,239	6,180 ± 0,423	0,835 ± 0,007	3,265 ± 0,105	1,463 ± 0,087
АЛ-12	4,739 ± 0,184*	4,852 ± 0,238*	0,877 ± 0,003*	3,846 ± 0,142*	4,308 ± 0,151*
Мілдронат	4,576 ± 0,231*	4,971 ± 0,201*	0,867 ± 0,006*	3,586 ± 0,111*	3,621 ± 0,179*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ по відношенню до контролю.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз одержаних результатів показав, що похідне ксантину АЛ-12 стабілізує енергетичний стан кардіоміоцитів тварин з ІМ, що підтверджується зростанням рівнів АТФ та АДФ на тлі зниження вмісту АМФ.
2. Дослідження додаткових параметрів енергозабезпечення (ЕЗ, ЕП, КП, ІФ, ТКД) свідчать, що АЛ-12 підвищує ступінь заповнення системи АТФ-АДФ-АМФ макроергічними зв'язками, активує прямі реакції перетворення АДФ з синтезом АТФ, нормалізує баланс співвідношення макроергічних фосфатів та інтенсивність фосфорилювання аденілнуклеотидної системи в цілому.
3. Одержані результати підтверджують наявність у сполуки АЛ-12 енерготропного ефекту, який перевищує ефект референс-препарату мідронату в умовах ІМ.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Александрова К. В. Пошук нейропротекторів з енерготропними властивостями в ряду похідних ксантину / [К. В. Александрова, І. Ф. Беленічев, С. В. Левіч та ін.] // Медична хімія. – 2014. – № 4 (61). – С. 85-88.
2. Машковский М. Д. Лекарственные средства. – Изд. 16-е, перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая Волна», 2010. – 1216 с.
3. Мецлер Д. Биохимия: В 3-х т. / Д. Мецлер. – М.: Мир, 1980. – Т. 2: Химические реакции в живой клетке. – 606 с.
4. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.
5. Шкода А. С. Изучение кардиопротективных свойств новых производных 3-бензилксантина (соединений А-10, А-12 и А-148) / [А. С. Шкода, М. В. Дьячков, Е. В. Александрова и др.] // Вестник новых мед. технол. – 2013. – Т. 20, № 3. – С. 114-117.
6. Aleksandrova K. V. Research of energotropic properties of 3-benzylxanthine derivative – prospective neuroprotector / K. V. Aleksandrova, S. V. Levich, I. F. Belenichev, A. S. Shkoda // Intern. J. of Pharmacy. – 2015. – № 5 (1). – P. 1-4.
7. Ford E. S. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third. National Health and Nutrition Examination Survey / E. S. Ford, W. H. Giles, W. H. Dietz // JAMA. – 2002. – Vol. 287. – P. 356-359.
8. Friedlander R. M. Functional role of interleukin-1 in IL-1 в converting enzyme-mediated apoptosis / R. M. Friedlander, V. Gardliardini, R. J. Rotello, H. Yuan // J. Exp. Med. – 1996. – Vol. 184. – P. 717-724.
9. Todaro J. F. Combined Effect of the Metabolic Syndrome and Hostility on the Incidence of Myocardial Infarction (The Normative Aging Study) / [J. F. Todaro, A. Con, R. Niaura et al.] // The American J. of Cardiol. – 2005. – Vol. 49. – P. 221-226.
10. Turhan H. Poor in-hospital outcome in young women with acute myocardial infarction. Does metabolic syndrome play a role? / H. Turhan, E. Yetkin // Intern. J. of Cardiol. – 2006. – Vol. 112. – P. 257-258.
11. Zarich S. Prevalence of metabolic syndrome in young patients with acute MI: does the Framingham Risk Score underestimate cardiovascular risk in this population / S. Zarich // Diabetes and Vascular Dis. Res. – 2006. – Vol. 3. – P. 103-106.

УДК 615.22'547.857-047.37

Е. В. Александрова, С. В. Левич, О. Б. Макоед

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНЕРГОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНОГО КСАНТИНА АЛ-12 – ПОТЕНЦИАЛЬНОГО КАРДИОПРОТЕКТОРА

Представлены результаты экспериментального исследования влияния производного ксантина АЛ-12 на энергетическое состояние кардиомиоцитов животных с инфарктом миокарда. В качестве эталонного препарата был использован милдронат.

Ключевые слова: производные ксантина; инфаркт миокарда; энерготропное действие

UDC 615.22'547.857-047.37

K. V. Aleksandrova, S. V. Levich, O. B. Makoyed

RESEARCH OF ENERGETROPIC PROPERTIES OF XANTHINE DERIVATIVE AL-12 – PROSPECTIVE CARDIOPROTECTOR

In the article are represented the results of experimental research of influence of xanthine derivative AL-12 on energetic state of cardiomyocytes of animals with infarction myocardium. As reference drug was used mildronate.

Key words: xanthine derivatives; infarction myocardium; energetropic action

Адреса для листування:

69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.

E-mail: aleksandrovaev.55@gmail.com

Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції 12.08.2015 р.