

## **ВПЛИВ ПОХІДНИХ КРАУН-ЕФІРІВ НА БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ В МІОКАРДІ**

*Проведено дослідження метаболічних порушень обміну нікотинамідних коферментів та макроергічних сполук – аденілових нуклеотидів, креатинфосфату і ферментів їх метаболізму в тканинах міокарда за умов токсичної антрациклінової кардіоміопатії (ТАК). Вивчено вплив на біоенергетичні процеси в міокарді тварин з ТАК нової фізіологічно активної сполуки метаболічної дії, зокрема похідного урацилу (карбіцилу), порівняно з кардіотоніками інших фармакологічних класів. Встановлено, що метаболічний кардіотонік краун-ефір карбіцил при введенні щурам з рубоміциновою кардіоміопатією значно нормалізує стан окисно-відновних процесів у міокарді; нормалізує ультраструктуру мітохондрій; зменшує вираження порушень енергетичного обміну в кардіоміоцитах; підвищує вміст окиснених форм коферментів НАД<sup>+</sup> та НАДФ<sup>+</sup>; збільшує рівень АТФ, КрФ, глікогену.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** рубоміцин, карбіцил, метаболічні кардіотоніки.

ВСТУП. Захворювання серцево-судинної системи продовжують займати провідне місце серед причин смертності населення більшості індустриальних країн світу. Значну роль серед причин серцевої недостатності відіграють кардіоміопатії, зумовлені різними токсичними чинниками, що викликають стан оксидантного стресу в цілісному організмі [1, 2], в тому числі дією лікарських засобів, зокрема антибіотиків антрациклінового ряду, антиметаболічних препаратів протипухлинної дії [3, 4].

Разом із тим, незважаючи на численні дослідження, біохімічні та молекулярні механізми порушення скоротливої діяльності кардіоміоцитів та її енергозабезпечення за умов серцевої недостатності (СН) усе ще недостатньо вивчено [7, 12], вони становлять одну з актуальних проблем медичної біохімії. 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 азотовмісних гетероциклічних сполук.

Значний інтерес для практичного застосування в кардіології викликає клас макроциклічних поліефірів, представники якого мають високу біологічну активність завдяки своїм унікальним комплексуювальним властивостям і подібності до іонофорних антибіотиків [10]. Тому доцільно вивчити вплив на біо-

© І. В. Ніженковська, О. І. Ніженковський, О. В. Вельчинська, К. Ю. Філіпова, 2012.

енергетичні процеси в міокарді нових похідних класу краун-ефірів порівняно з відомими еталонними кардіотоніками.

Для досягнення цієї мети було поставлено такі завдання:

1. Провести дослідження метаболічних порушень обміну нікотинамідних коферментів та макроергічних сполук – аденілових нуклеотидів, креатинфосфату і ферментів їх метаболізму в тканинах 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.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Основні серії експериментальних досліджень виконано на дорослих білих щурах лінії Вістар та кролях, яких утримували у віварії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Утримування і досліди на тваринах проводили відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Експериментальну серцеву недостатність моделювали в дослідах на щурах-самцях шляхом щотижневого внутрішньом'язового введення рубоміцину гідрохлориду в дозі 5 мг/кг маси тіла протягом 5 тижнів. Застосовували такі препарати: ру-

боміцину гідрохлорид (“Мосмедпрепарати” ім. Л. Я. Карпова), даунорубіцин (рубоміцину гідрохлорид виробництва АТ Ферейн, РФ).

Вміст у тканинах міокарда та печінки окиснених (НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>) та відновлених форм (НАДН, НАДФН) нікотинамідних коферментів визначали флуориметричним методом, активність НАД-гідролізуючих ферментів – за швидкістю гідролізу НАД<sup>+</sup> [11], вміст аденілових нуклеотидів – електрофоретичним методом з подальшою спектрофотометрією при довжині хвилі 260 та 290 нм. Вміст креатинфосфату (КрФ) оцінювали як різницю між загальним і вільним креатином, який визначали при спектрофотометричному продовженні хвилі 525 нм, глікогену – за допомогою антронового реактиву, активність креатинфосфатакінази (КФК) – за утворенням вільного креатину при інкубації з КрФ [5].

Порушення біоенергетичних процесів у клітинах міокарда за умов експериментальної кардіоміопатії було виявлено в багатьох дослідженнях [6, 8]. Разом із тим, детальних досліджень клітинної біоенергетики в міокарді при експериментальному моделюванні ТАК шляхом введення кардіотоксичного антибіотика рубоміцину раніше не проводили, що і стало об'єктом наших досліджень.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У ході досліджень було встановлено, що введення щурів рубоміцину гідрохлориду призводило до суттєвого порушення реакцій біологічного окиснення та постачання енергетичних субстратів у кардіоміоцитах, про що свідчили негативні зміни в концентрації та катаболізмі

нікотинамідних коферментів НАД<sup>+</sup> і НАДФ<sup>+</sup>, різке зменшення вмісту КрФ та глікогену (в 2,81 і 2,29 раза відповідно) та суттєве (на 75,3 %) зниження активності КФК (табл. 1).

На тлі порушення окиснювальних процесів та зменшення вмісту в кардіоміоцитах КрФ, що є резервом для відновлення макроенергетичних фосфатів у результаті функціонування креатинфосфокіназної реакції [9], в міокарді щурів спостерігалось значне зниження потенціалу фосфорилування та фонду АТФ, необхідного для виконання скорочувальної функції актомиозиновими комплексами 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 аденілових нуклеотидів, глікогену і стан креатинфосфокіназної системи за умов моделювання токсичної серцевої недостатності рубоміцином. Як свідчать результати, наведені на рисунку 1, у щурів, яким на тлі рубоміцину гідрохлориду вводили карбіцил, у кардіоміоцитах підвищувався на 24,9 % вміст окиснених форм нікотинамідних коферментів. Коефіцієнт окиснені/відновлені піридиннуклеотиди зростав при дії карбіцилу на 36,9 %. Загальна сума коферментів також збільшилась, що свідчило про тенденцію до нормалізації окиснювальних процесів. Активність НАД-гідролази за умов експерименту нормалізувалась.

Вплив карбіцилу та добутаміну на показники обміну аденілових нуклеотидів у міокарді щурів при ТАК, зумовлений рубоміцином, показано на рисунку 2.

Таблиця 1 – **Зміни показників енергетичного обміну в міокарді щурів при ТАК, модельованій шляхом введення рубоміцину (M±m)**

Біоенергетичний показник	Контроль	Рубоміцин
НАД <sup>+</sup> +НАДФ <sup>+</sup> , мкмоль/кг тканини	483±7	365±7*
НАД <sup>+</sup> +НАДФ <sup>+</sup> +НАДН+НАДФН, мкмоль/кг тканини	820±14	764±7*
Коефіцієнт окиснені/відновлені піридиннуклеотиди	1,43±0,04	0,92±0,02*
НАД-гідролаза, 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*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: \* – p<0,05 відносно контролю.

Таблиця 2 – **Вміст аденілових нуклеотидів (ммоль/кг тканини) в міокарді щурів за умов 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	0,63±0,04	0,51±0,04*

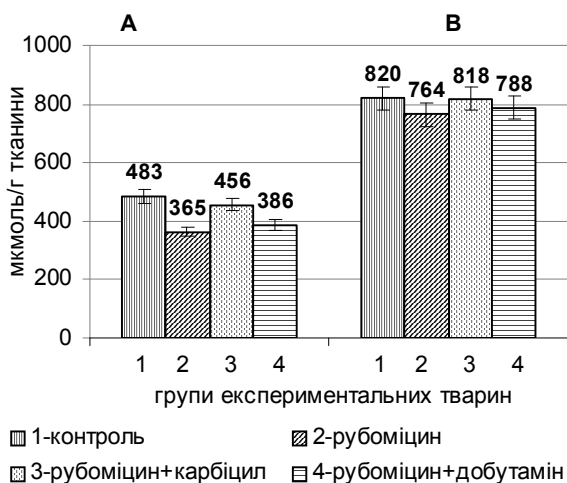


Рис. 1. Вплив кардіотоніків метаболітної дії, порівняно з добутаміном, на суму НАД<sup>+</sup>+НАДФ<sup>+</sup> (А) і загальний вміст окиснених та відновлених піридиннуклеотидів (В) у міокарді щурів за умов експериментальної ТАК.

Як свідчать отримані дані, система аденілових нуклеотидів теж зазнала менших порушень у міокарді тварин, які одержували рубоміцин разом із карбіцилом. Було встановлено, що система аденілових нуклеотидів зазнала менших негативних порушень і за умов введення щурам, отруєним рубоміцином, метаболітного препарату карбіцилу вміст АТФ зростає на 21,5 %, потенціал фосфорилування збільшується на 13,7 %, рівень АМФ, відпо-

відно, зменшувався на 28 %, а вміст Р<sub>неорг.</sub> наближався до величин у контрольній групі.

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

За умов введення карбіцилу спричинене рубоміцином зниження в міокарді концентрації як глікогену, так і КрФ було значно менш вираженим. Зокрема, рівень глікогену в серцевому м'язі тварин, які отримували карбіцил на тлі пошкодження рубоміцином, перевищував відповідні значення у щурів, яким вводили рубоміцин без метаболітних препаратів, на 102 %, наближаючись до контрольних величин.

Подібну значну протекторну дію карбіцилу виявлено і стосовно концентрації КрФ та активності КФК у міокарді щурів з пошкодженням рубоміцином.

Підсумовуючи вищенаведене, необхідно відзначити, що досліджувана сполука метаболітної природи карбіцил, що має кардіотонічну активність, суттєво активує процеси енерго-

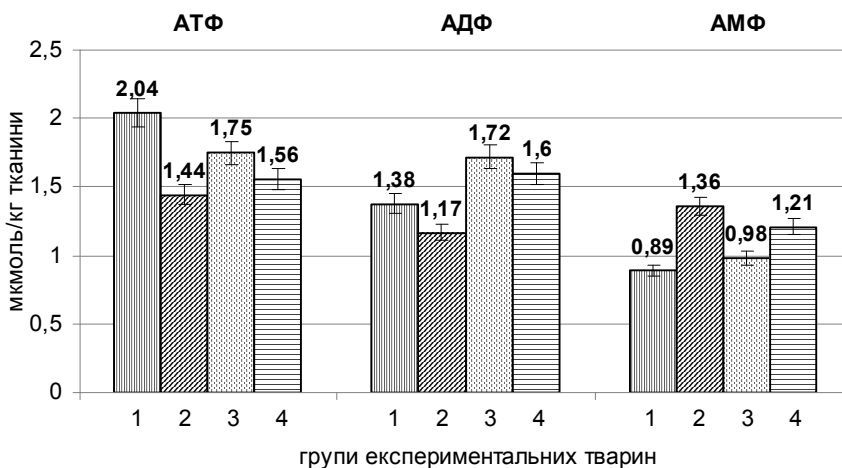


Рис. 2. Вплив карбіцилу та добутаміну на показники обміну аденілових нуклеотидів.

Таблиця 3 – Вплив карбіцилу на вміст КрФ і глікогену та активність КФК у міокарді щурів за умов експериментальної ТАК (M±m)

Умови експерименту	КрФ, ммоль/г тканини	КФК, мкмоль 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**

утворення та інтенсивність енергетичного обміну в міокарді інтактних тварин; більше того, значною мірою нормалізує порушення в системі макроергічних фосфатів та нікотинамідних коферментів при рубоміциновій ТАК. Значне покращення показників енергетичного обміну в міокарді при впливі карбіцилу, ймовірно, можна пояснити близькістю 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 ТАК, що проявляються

порушеннями окиснювальних процесів у мітохондріях, зменшенням вмісту в кардіоміоцитах резервів метаболітної енергії та макроергічних сполук – глікогену, креатинфосфату, АТФ та АДФ, являючи собою біохімічний субстрат порушення при СН енергозабезпечення скорочувального актоміозинового апарату міофібрил.

2. Уперше встановлено, що метаболітний кардіотонік похідне урацилу краун-ефір карбіцил при введенні щурам з рубоміциновою кардіоміопатією значно нормалізує стан окисно-відновних процесів у міокарді, нормалізує ультраструктуру мітохондрій, зменшує вираження порушень енергетичного обміну в кардіоміоцитах, підвищує вміст окиснених форм коферментів НАД<sup>+</sup> та НАДФ<sup>+</sup>, збільшує рівень АТФ, КрФ, глікогену.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Айстраханов Д. Д. Загальний огляд медико-демографічної ситуації та аналіз тенденцій у сфері охорони здоров'я за останні п'ять років (2002–2006 рр.) / Д. Д. Айстраханов, М. В. Банчук, І. І. Волинкін // Україна: здоров'я нації. – 2007. – № 3. – С. 3–7.
2. Амосова К. М. Діагностика та лікування гострої серцевої недостатності. Основні положення рекомендацій Європейського кардіологічного товариства / К. М. Амосова, Л. О. Ткаченко. // Серце і судини. – 2006. – № 2. – С. 24–33.
3. Бабак В. В. Фармакодинамика сочетанного применения сердечных гликозидов с цистеином, ацетилцистеином, таурином : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук / В. В. Бабак. – К., 1990. – 22 с.
4. Базарнова М. А. Руководство по клинической лабораторной диагностике : учебн. пособие / М. А. Базарнова, А. И. Воробьева, З. С. Баркаган. – К. : Вища школа, 1991. – 615 с.
5. Губский Ю. И. Определение активности перекисного окисления липидов в животных тканях / Ю. В. Хмелевский, Ю. И. Губский, С. Д. Зайцева // Биологическая химия. Практикум. – К. : Вища школа, 1985. – С. 119–121.
6. Ивашкин В. Т. Особенности синтеза оксида азота у больных с хронической сердечной недостаточностью / В. Т. Ивашкин, С. В. Горбатенкова, О. М. Драпкина // Клин. медицина. – 2004. – **82**, № 2. – С. 20–23.
7. Коркушко О. В. Современные представления о синдроме миокардиальной ишемии / О. В. Коркушко, В. Ю. Лишнева // Кровообіг та гемостаз. – 2003. – № 1. – С. 8–17.
8. Мохорт Н. А. Фармакодинамика и пути поиска кардиотонических лекарственных средств / Н. А. Мохорт, Н. А. Горчакова, А. И. Гриневич. – К., 1999. – 128 с.
9. Сакс В. А. Биохимические основы защитного действия креатинфосфата на ишемический миокард / В. А. Сакс, С. А. Джавадов, Е. Г. Позин // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. – М., 1989. – С. 134–159.
10. Синкай С. Новые достижения в химии переклюаемых краун-эфиров и перспективы их развития / С. Синкай // Журн. Всесоюз. химич. общества им. Д. И. Менделеева. – 1985. – **30**, № 5. – С. 546–555.
11. 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.
12. Фролькис В. В. Старение и экспериментальная возрастная патология сердечно-сосудистой системы / В. В. Фролькис, В. В. Безруков, О. К. Кульчицкий. – К. : Наукова думка, 1994. – 248 с.

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ КРАУН-ЭФИРОВ НА БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МИОКАРДЕ

### Резюме

Проведено исследование метаболических нарушений обмена никотинамидных коферментов и макроэргических соединений – адениловых нуклеотидов, креатинфосфата и ферментов их метаболизма в тканях миокарда в условиях токсической антрациклиновой кардиомиопатии (ТАК). Изучено влияние на биоэнергетические процессы в миокарде животных с ТАК нового физиологически активного соединения метаболического действия, а именно производного урацила (карбицила), в сравнении с кардиотониками других фармакологических классов. Установлено, что метаболический кардиотоник краун-эфир карбицил при введении крысам с рубомициновой кардиомиопатией значительно нормализует состояние окислительно-восстановительных процессов в миокарде; нормализует ультраструктуру митохондрий; уменьшает выраженность нарушений энергетического обмена в кардиомиоцитах; повышает содержание окисленных форм коферментов НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>; увеличивает уровень АТФ, КрФ, гликогена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рубомицин, карбицил, метаболические кардиотоники.

I. V. Nizhenkovska, O. I. Nizhenkovskiy, O. V. Velchynska, K. Yu. Philipova  
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O. O. BOHOMOLETS, KYIV

## INFLUENCE OF CROWN-ETHER'S DERIVATIVES ON THE BIOENERGETICAL PROCESSES IN THE MYOCARD

### Summary

Investigation of metabolic disturbs – change of nicotinamid's coenzymes and macroergic compounds – adenilic nucleotides, creatine phosphate and ferments of it's metabolism at myocardial tissue at conditions of toxically antracyclinin cardiomyopathy (TAC) were carried out. The influence on bioenergetical processes at myocardium of animals with TAC of new physiological active compound with metabolic action such as derivative of uracile (Carbicyl) in comparison with cardiotonics of other pharmacological classes were studied. It was shown that metabolic cardi tonic crown-ether Carbicyl essential standardize of position of oxidation-hydrogenization processes at myocardium; standardize of ultrastructural lesion; reduce of expressive of energetically change disturbs at the cardiomiocytes; increase of contents of oxidated forms of coenzymes NAD<sup>+</sup> and NADP<sup>+</sup>; increase of the level of ATP, creatine phosphate, glycogen.

KEY WORDS: rubomycin, Carbicyl, metabolic cardiotonics.

Отримано 18.10.11

Адреса для листування: О. В. Вельчинська, вул. Анни Ахматової, 16 "Г", кв. 14, Київ-068, 02068, Україна.