

**КОРИГУВАЛЬНИЙ ВПЛИВ МІЛДРОНАТУ НА ПОКАЗНИКИ
ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ
НА ТЛІ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ДОКСОРУБІЦИНУ**

Досліджено вплив мілдронату на показники оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканинах органів щурів на тлі оксидативного стресу, викликаного протипухлинним антибіотиком доксорубіцином (5 мг/кг, 4 рази на місяць). Мілдронат (50 мг/кг, упродовж 4-х тижнів) запобігає і частково відновлює порушену доксорубіцином оксидантно-антиоксидантну рівновагу, зменшуючи вміст у тканинах органів продуктів ліпопероксидації, окисномодифікованих білків, та активує ферменти антирадикального захисту (каталаза, церулоплазмін).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **мілдронат, доксорубіцин, оксидантно-антиоксидантний гомеостаз.**

ВСТУП. Мілдронат-3-(2,-2,-2-триметилгдіразинію) пропіонат, відомий цитопротектор, з успіхом використовують у клініці внутрішніх хвороб при патологічних станах, які супроводжуються гіпоксією, зокрема в комплексній терапії стенокардії, хронічної серцевої недостатності, ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда тощо [7, 9, 12]. Мілдронат блокує синтез карнітину шляхом інгібування активності ферменту γ -бутиробетаінгідроксилази, значна кількість якого міститься в печінці та нирках [2, 7]. При зменшенні в клітинах карнітину й ацилкарнітину пригнічується β -окиснення вищих жирних кислот, що сприяє ефективному окисненню глюкози [2, 3]. Мілдронат пригнічує також активність карнітинпальмітоїлтрансферази-1 і функціонування транспортних білків карнітину та збільшує концентрацію й активність гексокінази та Ca^{2+} -АТФ-ази [2, 3, 7]. Зменшення концентрації карнітину в організмі відбувається завдяки не лише пригніченню синтезу, а й прискореному виведенню з організму, оскільки зменшується його реабсорбція в ниркових канальцях [2]. Активація аеробного окиснення глюкози забезпечує економію кисню, оптимізує енергетичний метаболізм у клітинах за умов ішемії та реперфузії. Позитивний вплив мілдронату на енергетичний обмін зумовлений також зростанням виходу АТФ із мітохондрій і збільшенням утворення креатинфосфату в цитозолі [2]. Така корекція метаболічних процесів при застосуванні мілдронату доцільна при різних гіпоксичних

станах, при яких порушуються функції життєво важливих органів (серце, нирки, печінка та ін.).

Відомо, що серйозною побічною реакцією при застосуванні протипухлинного антибіотика антраценового походження доксорубіцину є кардіотоксичність [1], в основі патогенезу якої лежать порушення оксидантно-антиоксидантного гомеостазу [6, 17]. Доксорубіцин має також нефротоксичну дію, створюючи, таким чином, ознаки інтоксикації організму [14]. В останні роки ведуться пошуки способів зменшення токсичної дії препарату на організм завдяки як застосуванню лікарських засобів “прикриття” (препарати з антиоксидантною, мембранопротекторною, антитоксичною діями), так і створенню ліпосомальних форм доксорубіцину, більш ефективних і менш токсичних для організму онкохворих [5, 13].

Метою даної роботи було дослідити вплив мілдронату на показники оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі тварин за дії доксорубіцину.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 30 білих нелінійних щурах-самцях масою 150–170 г, поділених на 3 групи: в 1-й – модель доксорубіцинової інтоксикації (раз на тиждень, 4 рази), вводили доксорубіцин (“Київ-медпрепарат”, 5 мг/кг, внутрішньом’язово); у 2-й – за аналогічного режиму введення доксорубіцину тваринам щоденно вводили мілдронат (“Grindex”, 50 мг/кг, внутрішньочеревно). Контролем слугували щури (3-тя група), яким замість лікарських засобів вводили

© Ж. М. Гаїна, Р. Б. Косуба, І. М. Яремій, 2012.

розчинник (воду для ін'єкцій). На 28 добу від початку експерименту тварин умертвляли шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією. Органи (серце, нирки, печінка) виділяли, промивали у 0,9 % розчині NaCl, ретельно висушували фільтрувальним папером, подрібнювали ножицями на льодовій бані й готували 5 % гомогенати на трис-HCL-буфері (рН 7,4). У супернатантах визначали вміст основних показників оксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Інтенсивність процесів ліпопероксидації оцінювали за вмістом ТБК-активних початкових (дієнові кон'югати, ДК) [16], кінцевих (малоновий діальдегід, МДА) [15] продуктів та окисномодифікованих білків (ОМБ) [11]. Стан основних компонентів антиоксидантної системи захисту (АОЗ) оцінювали за активністю каталази [10] та вмістом церулоплазміну [8].

При роботі з тваринами дотримувалися вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [4]. Отриманий цифровий матеріал обробляли методами статистичного аналізу. Вірогідність різниці середніх арифметичних (P) визначали параметричним методом з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані нами результати свідчать про те, що багаторазове введення доксорубіцину порушує оксидантно-антиоксидантну рівновагу в гомогенатах серця щурів (табл. 1). Вміст ДК збільшився на 65,8 %, МДА – на 75 %, ОМБ – на 44,7 % порівняно з показниками контрольних тварин, що узгоджується з результатами досліджень інших авторів і призводить до пошкодження мембранного апарату кардіоміоцитів та розвитку кардіоміопатії [1, 6, 13, 18]. На оксидативний стрес зреагувала АОЗ організму – активність каталази в серцевому м'язі зросла майже вдвічі (на 86,3 %), вміст церулоплазміну не змінився.

Під впливом мілдронату вміст ДК у серцевому м'язі інтоксикованих доксорубіцином щурів зменшився на 30,8 %, МДА – на 46,8 %, ОМБ – на 21,8 %. Активність каталази, знизившись на 42,2 %, вірогідно не відрізнялася від показника контрольних тварин, вміст церулоплазміну при цьому мав тенденцію до збільшення. Отже, мілдронат зменшив прояви оксидативного стресу за умов доксорубіцинової кардіоміопатії.

За дії доксорубіцину в гомогенатах нирок інтенсивність процесів ПОЛ, ОМБ та активність ферментів АОЗ також зазнали змін (табл. 2).

Таблиця 1 – Вплив мілдронату на показники ПОЛ, ОМБ та ферменти АОЗ у серці щурів на тлі доксорубіцинової кардіоміопатії (M±m)

Показник	Контроль (n=6)	Доксорубіцин (n=6)	Доксорубіцин+мілдронат (n=6)
ДК, нмоль/мг білка	0,79±0,009	1,31±0,017* (+65,8 %)	0,92±0,026*# (-30,8 %)
МДА, нмоль/мг білка	0,44±0,006	0,77±0,028* (+75 %)	0,41±0,014*# (-46,8 %)
ОМБ, ммоль/г тканини	0,114±0,005	0,165±0,0060* (+44,7 %)	0,129±0,0009*# (-21,8 %)
Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	5,26±0,289	9,80±0,451* (+86,3 %)	5,67±0,244*# (-42,2 %)
Церулоплазмін, мг/л	126,87±4,025	130,29±0,981	137,55±5,355

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – вірогідність відносно контрольних тварин; # – вірогідність відносно дії доксорубіцину; % – динаміка зміни показника.

Таблиця 2 – Вплив мілдронату на показники ПОЛ, ОМБ та ферменти АОЗ у нирках щурів на тлі доксорубіцинової інтоксикації (M±m)

Показник	Нирки (мозкова речовина)		
	контроль (n=6)	доксорубіцин (n=6)	доксорубіцин+мілдронат (n=6)
ДК, нмоль/мг білка	0,69±0,022	1,13±0,055* (+63,7 %)	0,81±0,017*# (-28,3 %)
МДА, нмоль/мг білка	0,46±0,011	0,69±0,036* (+50 %)	0,53±0,009*# (-23,2 %)
ОМБ, ммоль/г білка	0,06±0,011	0,07±0,002 (+16,6 %)	0,05±0,003* (-28,6 %)
Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	9,55±0,237	12,77±0,316* (+33,7 %)	8,44±0,392*# (-34 %)
Церулоплазмін, мг/л	127,57±3,535	124,83±1,666	122,32±2,73

Вміст ДК та МДА у мозковій речовині нирок зріс в 1,6–1,5 раза ($p < 0,01$), відповідно, кількість ОМБ збільшилася на 16,6 %. Активність каталази при цьому підвищилась в 1,3 раза ($p < 0,001$), що свідчить про участь даного ферменту в запобіганні оксидативному стресу, індукованому доксорубіцином (каталаза знешкоджує ендogenousний перекис водню як одну з найагресивніших активних форм кисню).

У нирках щурів, які на тлі інтоксикації доксорубіцином отримували мілдронат, інтенсивність процесів ліпопероксидації та вільнорадикального окиснення білків зменшилася вдвічі, що супроводжувалося адекватним зниженням активності каталази. Як і в серці, вміст церулоплазміну в нирках не змінився (табл. 2).

У гомогенатах печінки інтоксикованих тварин під впливом мілдронату показники прота антиоксидантних процесів нормалізувалися і вірогідно не відрізнялися від контролю.

Аналіз отриманих нами результатів, хімічна будова мілдронату та дані наукової літератури [2, 3, 7] дозволяють припустити можливість

існування ще одного напрямку в дії мілдронату – антиоксидантного, в основі якого, ймовірно, лежить підвищення активності каталази та інших ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза), для підтвердження участі яких необхідні відповідні додаткові дослідження.

ВИСНОВКИ. 1. Доксорубіцин (5 мг/кг, 4 рази на місяць) викликає оксидативний стрес, який супроводжується підвищенням вмісту в тканинах щурів продуктів пероксидного окиснення ліпідів (дієнові кон'югати, малоновий діальдегід), окисномодифікованих білків та порушенням механізмів антирадикального захисту.

2. Мілдронат (50 мг/кг, упродовж 4 тижнів) запобігає і частково відновлює порушену доксорубіцином оксидантно-антиоксидантну рівновагу, зменшуючи вміст продуктів ліпопероксидації, окисномодифікованих білків, та активує ферменти антирадикального захисту (каталаза, церулоплазмін).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антрациклиновая кардиомиопатия (данные за 2003–2006 гг.) / В. Т. Ватутин, Н. В. Калинин, Т. С. Гончаренко [и др.] // Укр. мед. альманах. – 2006. – 9, № 5. – С. 155–161.
2. Биохимические механизмы действия милдроната в условиях ишемического стресса / М. Дамброва, Д. Дайя, Э. Лиепиньш [и др.] // Врач. дело. – 2004. – № 2. – С. 69–73.
3. Гордеев И. Г. Антиоксидантный эффект кардиопротектора милдроната у пациентов, подвергшихся коронарной реваскуляризации / И. Г. Гордеев, Е. Е. Лучинкина, В. А. Люсов // Рос. кардиол. журн. – 2009. – № 1. – С. 31–37.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
5. Эффективность застосування тіотриазоліну за умов доксорубіцинової кардіоміопатії / І. С. Чекман, Т. С. Трофімова, І. А. Мазур, Н. О. Горчакова // Запорож. мед. журн. – 2010. – 12, № 5. – С. 207–210.
6. Индуцированная антрациклинами кардиотоксичность: механизмы развития и клинические проявления / М. Г. Матяш, Т. Л. Кравчук, В. В. Высоцкая [и др.] // Сибир. онкол. журн. – 2008. – № 6 (30). – С. 67–74.
7. Калвиньш И. Я. Милдронат – механизм действия и перспективы его применения / И. Я. Калвиньш. – Рига : Изд-во ПАО "Гриндекс", 2001. – 122 с.
8. Колб В. Г. Справочник по клинической биохимии / В. Г. Колб. – Минск : Беларусь, 1982. – 290 с.
9. Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио- и органопротекции / И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, С. Б. Французова, Е. А. Нагорная. – К., 2009. – 155 с.
10. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
11. Мещишен І. Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Бук. мед. вісник. – 1998. – 2, № 1. – С. 156–158.
12. Михин В. П. Перспективы применения милдроната у больных сердечно-сосудистой патологией / В. П. Михин, Ф. Е. Хлебодаров // Рос. кардиол. журн. – 2010. – № 4 (84) – С. 158–168.
13. Мохорт М. А. Кардіотоксичні ефекти доксорубіцину і доцільність їх фармакологічної корекції антагоністами кальцію дигідропіридинового ряду та активаторами АТФ-чутливих калієвих каналів гуанідного ряду / М. А. Мохорт, Н. М. Серединська, Л. М. Киричок // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4 (17). – С. 35–44.
14. Саенко Ю. В. К механизму токсического действия доксорубицина на почки / Ю. В. Саенко, А. М. Шутов, Р. Х. Мусина // Нефрология. – 2006. – 10, № 4. – С. 72–76.
15. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

16. Стальная И. Д. Методы определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 42–44.

17. Степанюк Г. І. Вплив вінборону на розвиток оксидативного стресу при експериментальній доксорубіциновій кардіоміопатії за динамікою біохімічних показників / Г. І. Степанюк, Е. Г. Іванова, Н. І. Іванова //

Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4 (17). – С. 56–59.

18. The influence of the time interval between monoHER and doxorubicin administration on the protection against doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice / A. M. Bruynzeel, P. P. Mul, J. Berkhof [et al.] // Cancer Chemother. Pharmacol. – 2006. – **58**, № 5. – P. 699–702.

Ж. М. Гаина, Р. Б. Косуба, И. Н. Яремий
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

КОРРИГИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС НА ФОНЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДОКСОРУБИЦИНА

Резюме

Исследовано влияние милдроната на показатели оксидантно-антиоксидантного гомеостаза в тканях органов крыс на фоне оксидативного стресса, вызванного противоопухолевым антибиотиком доксорубицином (5 мг/кг, 4 раза в месяц). Милдронат (50 мг/кг, в течение 4-х недель) предотвращает и частично восстанавливает нарушенное доксорубицином оксидантно-антиоксидантное равновесие, уменьшая содержание в тканях органов продуктов липопероксидации, окислительно-модифицированных белков, и активирует ферменты антирадикальной защиты (каталаза, церулоплазмин).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: милдронат, доксорубицин, оксидантно-антиоксидантный гомеостаз.

Zh. M. Hayina, R. B. Kosuba, I. M. Yaremii
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

CORRECTIVE EFFECT OF MILDRONATE ON INDICES OF OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN RATS ORGAISMS AGAINST THE BACKGROUND OF THE TOXIC DOXORUBICIN ACTION

Summary

The effect of mildronate on indices of oxidant-antioxidant homeostasis in tissues of rats' organisms against the background of oxidant stress induced by antitumoral antibiotic doxorubicin (5 mg/kg 4 times a month) has been studied. Mildronate (50 mg/kg during 4 weeks) prevents and partially restores the impaired by doxorubicin oxidant-antioxidant balance reducing the content of lipid peroxidation products, oxidatively modified proteins and activates enzymes of antiradical defense (catalase, ceruloplasmin).

KEY WORDS: mildronate, doxorubicin, oxidative-antioxidant homeostasis.

Отримано 12.12.11

Адреса для листування: Р. Б. Косуба, вул. Д. Загули, 6/4, Чернівці, 58001, Україна.