

ФАРМАКОКОРЕКЦІЯ ПОРУШЕНЬ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ ПРЕПАРАТОМ “ВІТАГЕРМ-3” У ТВАРИН З ГІПОКСИЧНИМ СИНДРОМОМ

©К. О. Шебалдова, К. М. Міщенко

Державний заклад «Луганський державний медичний університет»

РЕЗЮМЕ. Для оцінки впливу координаційної сполуки германію з діетилентриамінпентаоцтовою кислотою та калієм (ВІТАГЕРМ-3) на вуглеводний обмін у щурів при гіпоксичному синдромі визначали концентрації глюкози та продуктів її метаболізму – піровиноградної кислоти та лактату – в крові та розраховували окислювально-відновлювальний потенціал (ОВП). Встановлено, що застосування препарату “ВІТАГЕРМ-3” приводить до підвищення вмісту пірувату та зниження – лактату, порівняно з контролем у всі терміни дослідження. У цьому плані ВІТАГЕРМ-3 не поступається референтному препарату (мексидолу). Є підстави вважати, що одним із механізмів протишемічної дії препарату “ВІТАГЕРМ-3” може бути спроможність цієї сполуки підсилювати адаптаційні реакції організму в умовах гіпоксичної гіпоксії шляхом активації процесів глюконеогенезу, водночас запобігаючи розвитку метаболічного ацидозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сполуки германію, ВІТАГЕРМ-3, вуглеводний обмін, гіпоксичний синдром.

Вступ. В останні роки в Україні, як і в інших країнах світу, має місце значне збільшення кількості техногенних катастроф. Сьогодні приблизно 75–80 % всіх професійних захворювань в Україні припадає на працівників вугільної промисловості. Комплексний аналіз травматизму гірників за умов шахтної травми свідчить про те, що в основі ґенезу більшості патологічних станів, які розвиваються при цьому, лежить гіпоксичний синдром [1, 2].

На сьогодні як перша медична допомога, так і подальше лікування потерпілих в умовах різкого дефіциту кисню на тлі гіперкапнії проводяться лише шляхом застосування засобів симптоматичної терапії, які далеко не завжди забезпечують бажаний лікувально-профілактичний ефект, оскільки ефективні та безпечні засоби патогенетичної терапії гіпоксичних станів, що формуються за умов замкнутого простору, на жаль, відсутні, що суттєво відображається на кінцевих результатах лікування постраждалих [3, 4].

У зв'язку з цим пріоритетним напрямком вітчизняної фармакології екстремальних станів є розробка високоефективних засобів лікарської профілактики невідкладних станів, що формуються за умов гострої гіпоксичної гіпоксії на тлі прогресуючої гіперкапнії. До числа фармакологічних речовин, що володіють такими поєднаними властивостями, з впевненістю можна віднести новий клас комплексних сполук германію [5, 6], в т.ч. координаційну сполуку германію з діетилентриамінпентаоцтовою кислотою та калієм (ВІТАГЕРМ-3), яка за результатами попередніх скринінгових досліджень, що були проведені нами раніше, на моделі гіпоксії замкнутого простору (ГЗП) виявила виразну протигіпоксичну активність [7, 8].

Варто зазначити, що на сучасному етапі розвитку експериментальної медицини з появою принципово нових методичних підходів стає можливим з'ясування всебічних механізмів розвитку

гіпоксичного синдрому, а також встановлення взаємозв'язку його розвитку з розладами різних видів гомеостазу організму. Особливої уваги, на нашу думку, заслуговує вивчення такого кисень-чутливого виду обміну, як вуглеводний. З огляду на те, що за умов гіпоксії при порушенні вуглеводного обміну відбувається зниження швидкості аеробного окиснення та перехід його на анаеробний тип, що призводить до накопичення лактату та, як наслідок, до формування лактат-ацидозу, було логічним визначити вплив досліджуваної сполуки германію на вуглеводний обмін, а саме на рівні глюкози, лактату та пірувату у сироватці крові щурів в динаміці за умов ГЗП та на тлі профілактичного застосування ВІТАГЕРМу-3, що власне і склало мету даного фрагмента комплексного дослідження.

Матеріали та методи дослідження. Досліди виконані на 47 білих статевозрілих нелінійних щурах обох статей масою 190–230 г, згідно з методичними рекомендаціями ДП «Державний експертний Центр МОЗ України» (ДП «ДЕЦ МОЗ України») [9], у лабораторії кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет». Моделювання гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією проводили у повній відповідності до методичних рекомендацій [10], шляхом розміщення щурів в ізольованих скляних гермооб'ємах (10 дм³) впродовж 30 хв.

Щури були поділені на 4 групи: інтактну, контрольну (ГЗП), дослідну (ГЗП + ВІТАГЕРМ-3) та референтну (ГЗП + мексидол). Тваринам дослідної групи внутрішньоочеревинно вводили ВІТАГЕРМ-3 у вигляді 1 % водного розчину у раніше розробленому нами дозовому режимі: 49 мг/кг за 36 хв до початку моделювання ГЗП [11]. Препаратом порівняння було обрано мексидол (“Фармасофт”, Російська Федерація), який вводили у дозі 100 мг/кг за 36 хв до початку моделювання гіпоксії [12].

Тварини контрольної групи отримували в такому ж режимі дозування ізотонічний розчин натрію хлориду.

Про вплив досліджуваного препарату на стан вуглеводного обміну в організмі всіх щурів судили за кількісним станом головного постачальника енергії в клітинах – глюкози, а також проміжного продукту її метаболізму – піровиноградної кислоти (ПВК) і кінцевого продукту анаеробного гліколізу і глікогенолізу – лактату в крові тварин.

Рівень глюкози визначали методом, що заснований на реакції її окиснення киснем повітря в присутності глюкозооксидази до глюконової кислоти і перекису водню за допомогою біохімічних наборів фірми «Філісіт-діагностика» (Україна). Концентрацію лактату і пірувату ідентифікували за допомогою неферментативної методики в одній пробі [13], в основу якої покладено здатність молочної кислоти перетворюватися на ацетальдегід, а пірувату – утворювати комплекс жовтого кольору п-диметил-амінобензальдегідом в умовах лужної реакції середовища.

З метою більш коректної оцінки стану вуглеводного обміну в організмі щурів з ГЗП розраховували окислювально-відновлювальний потенціал (ОВП) системи молочна – піровиноградна кислота за формулою [14]:

$$\text{ОВП} = C_{\text{л}} / C_{\text{п}},$$

де $C_{\text{л}}$ – концентрація лактату;

$C_{\text{п}}$ – концентрація піровиноградної кислоти.

Всі кількісні показники, що використані при виконанні даної роботи, обробляли статистично на комп'ютері з використанням програми Microsoft Excel, оцінюючи вірогідність при рівні значимості

не менше 95 % ($P \leq 0,05$) з використанням критерію t Ст'юдента [15].

Результати й обговорення. Результати досліджень рівня глюкози в сироватці крові щурів за умов гіпоксичного синдрому при профілактичному застосуванні ВІТАГЕРМу-3 у різні терміни після моделювання ГЗП представлені в таблиці 1.

Встановлено, що у групі щурів з гострою гіпоксією без лікування (контроль) вже за 1 год після реоксигенації рівень глюкози у сироватці крові у середньому на 38 % нижчий від аналогічного показника в інтактній серії. Через 6 год після реоксигенації рівень глюкози має тенденцію до зростання, але він майже на 25 % нижчий від рівня, що спостерігається в інтактній групі.

Зниження рівня глюкози крові при ГЗП виникає внаслідок переважання процесів її утилізації для забезпечення енергетичних потреб організму над процесами доставки. Проте зниження рівня цукру крові, як відомо, стимулює виділення глюкагону, глюкокортикостероїдів, катехоламінів, які, в свою чергу, активують процеси глікогенолізу та глюконеогенезу в печінці, тому рівень глікемії у подальшому має тенденцію до зростання, про що й свідчать отримані експериментальні дані (див. табл. 1).

Введення ж ВІТАГЕРМу-3 з профілактичною метою сприяє нормалізації рівня глюкози, а саме: вже через 1 год після вилучення тварин з гермооб'ємів в дослідній групі рівень глюкози в 1,8 раза, а на 6-й год – в 1,5 раза нижче від показників, що зареєстровані в контрольній серії. Слід зазначити, що рівень глюкози у щурів, яким вводили ВІТАГЕРМ-3, вірогідно не відрізняється від величин, що визна-

Таблиця 1. Динаміка рівня глюкози в сироватці крові щурів з ГЗП при застосуванні препарату "ВІТАГЕРМ-3" (n=6)

Група тварин	Стат. показник	Терміни дослідження (в годинах після початку реоксигенації)	
		1	6
Глюкоза (ммоль/л)			
Інтактна	M	5,89	
	±m	0,28	
Контрольна	M	3,25	3,92
	±m	0,17	0,18
	P ₁	<0,001	>0,05
Дослідна	M	4,67	5,03
	±m	0,45	0,30
	P ₁	>0,05	>0,05
	P ₂	<0,05	<0,05
Референтна	P ₃	>0,05	>0,05
	M	4,35	4,25
	±m	0,37	0,44
	P ₁	<0,05	>0,05
	P ₂	<0,05	>0,05

Примітки: тут та у наступних таблицях P₁ – у порівнянні з інтактною групою; P₂ – у порівнянні з контрольною групою; P₃ – у порівнянні з референтною групою.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

чаються у групі «здорових» тварин, а тим більше при застосуванні референтного препарату.

Надалі логічно виправданим було визначення концентрацій продуктів метаболізму глюкози –

лактату та пірвіноградної кислоти у крові тварин з формою гіпоксичного синдрому, що моделюється. Отримані при цьому дані представлені в таблиці 2.

Таблиця 2. Динаміка рівня лактату та пірвату у крові щурів з ГЗП при застосуванні препарату "ВІТАГЕРМ-3" (n=6)

Група тварин	Стат. показник	Терміни дослідження (в годинах після початку реоксигенації)	
		1	6
Лактат (мкмоль/л)			
Інтактна	M	0,51	
	±m	0,05	
Контрольна	M	2,09	1,59
	±m	0,28	0,27
	P ₁	<0,01	<0,01
Дослідна	M	1,30	0,98
	±m	0,16	0,16
	P ₁	<0,01	<0,05
	P ₂	<0,05	>0,05
Референтна	M	1,24	0,91
	±m	0,13	0,17
	P ₁	<0,01	<0,05
	P ₂	<0,05	>0,05
Пірват (мкмоль/л)			
Інтактна	M	291,00	
	±m	24,37	
Контрольна	M	188,00	220,50
	±m	24,01	43,38
	P ₁	<0,05	>0,05
Дослідна	M	270,25	281,25
	±m	7,46	17,74
	P ₁	>0,05	>0,05
	P ₂	<0,05	>0,05
Референтна	M	236,75	279,00
	±m	51,95	59,70
	P ₁	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	>0,05

Результати дослідження вмісту кінцевого продукту анаеробного метаболізму глюкози – лактату при ГЗП, свідчать про те, що в контрольній групі тварин реєструється вірогідне (P<0,01) та вельми значне (в 4 рази) підвищення рівня молочної кислоти, у порівнянні з інтактною серією тварин, практично одразу (1 год) після закінчення моделювання ГЗП. Через 6 год рівень лактату незначно знижується, але його значення ще у 3 рази вищі, ніж у інтактних тварин. Виявлені зміни можна пояснити тим, що при гіпоксії відбувається активація анаеробного гліколізу з одночасним порушенням функціонування пірватдегідрогеназного комплексу внаслідок пригнічення ферментативних функцій з подальшим формуванням лактат-ацидозу, який властивий даній патології [16].

При застосуванні ж ВІТАГЕРМу-3 за умов гострої гіпоксії з гіперкапнією відбувається нормалізація аналізованого показника у порівнянні з контрольною групою тварин протягом всіх термінів спостереження. Слід відмітити, що досліджувана германійорганічна сполука не поступається, в плані зниження рівня лактату, референтному препарату (P>0,05).

Отже, використання з профілактичною метою досліджуваної сполуки германію запобігає накопиченню лактату і, відповідно, розвитку метаболічного ацидозу в крові щурів за умов ГЗП. Тому є підстави думати, що одним із механізмів антигіпоксичної дії ВІТАГЕРМу-3, в умовах експерименту, що вивчаються, може бути його спроможність підсилювати адаптаційно-захисні реакції організму, водночас запобігаючи розвитку метаболічного ацидозу.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

При визначенні концентрації пірувату у крові щурів в умовах ГЗП встановлено, що у контрольній групі відбувається достовірне ($P < 0,01$) зниження рівня цього субстрату на 35 % та 24 % на 1-й та 6-й год дослідження відповідно, порівняно з інтактними тваринами.

Це, як нам видається, можна розглядати як результат зменшення активності піруватдегідрогеназного комплексу і зниження окиснювального декарбоксілювання пірувату при гіпоксії. При цьому рівновагу реакцій піруват – лактат зрушено в бік утворення лактату. Крім того, при гіпоксії, як відомо, зменшується синтез АТФ, що веде до зниження швидкості глюконеогенезу як альтернативного шляху утилізації лактату. Підвищення концентрації лактату негативно впливає на активність ферментів, у тому числі й піруваткарбоксілази, що каталізує початкову реакцію глюконеогенезу.

Застосування ВІТАГЕРМу-3 з профілактичною метою за умов ГЗП приводить до достовірного

($P < 0,01 - < 0,05$) підвищення вмісту пірувату у порівнянні з контролем у всі терміни дослідження. Заслуговує на увагу те, що вже за 6 год реоксигенації вірогідної різниці ($P > 0,05$) в концентраціях пірувату в крові тварин дослідної та інтактної серій не спостерігається.

Для збільшення ступеня коректності оцінки стану вуглеводного обміну за умов експерименту, що вивчається, нами було розраховано такий параметр стану вуглеводного обміну, як ОВП. Дані, представлені у таблиці 3, свідчать про те, що вже за 1 год реоксигенації величина ОВП в 6,3 раза ($P < 0,001$) більша, аніж аналогічний показник в інтактній групі щурів. У подальшому (через 6 годин) значення даного показника знижується, але ще залишається в 3,4 раза ($P < 0,01$) вищим, порівняно з “нормою”. Ці результати можна розглядати як підтвердження того факту, що за умов досліджуваної патології відбувається домінування окисних процесів над відновними, яке характерне для анаеробного типу окиснення.

Таблиця 3. Динаміка рівня ОВП у крові щурів з ГЗП при застосуванні ВІТАГЕРМу-3 (n=6)

Група тварин	Стат. показник	Терміни дослідження (в годинах після початку реоксигенації)	
		1	6
Інтактна	M	0,0018	
	±m	0,0002	
Контрольна	M	0,0113	0,0061
	±m	0,0011	0,0050
	P ₁	<0,001	<0,001
Дослідна	M	0,0049	0,0035
	±m	0,0007	0,0005
	P ₁	<0,01	<0,05
	P ₂	<0,01	<0,05
	P ₃	>0,05	>0,05
Референтна	M	0,0078	0,0037
	±m	0,0026	0,0008
	P ₁	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	<0,05

В дослідній серії вже за 1 год реоксигенації значення ОВП у 2,3 раза, а на 6-й год – у 1,9 рази менші, ніж в контрольній групі. Слід зазначити, що у всі терміни дослідження величини ОВП у тварин, яким попередньо вводили ВІТАГЕРМ-3, суттєво не відрізняються від тварин референтної групи.

Висновок. Протекторна дія антигіпоксичного типу ВІТАГЕРМу-3 в умовах ГЗП реалізується високоефективною здатністю запобігати форму-

ванню, стабілізацією порушень вуглеводного обміну в частині нормалізації рівня глюкози і пірувату, а також запобігати накопиченню надлишкових кількостей лактату та розвитку метаболічного ацидозу в умовах досліджуваної патології.

Перспективи подальших досліджень.

Експериментально встановлені фармакодинамічні ефекти ВІТАГЕРМу-3 обґрунтовують доцільність подальшого доклінічного вивчення цього потенційного антигіпоксанта.

ЛІТЕРАТУРА

1. Современные тенденции травматизма в угольной промышленности и оказание экстренной помощи пострадавшим с шахтной травмой / Климовицкий В. Г., Шпаченко Н. Н., Пастернак В. Н. [и др.] // Проблемы військової

охорони здоров'я : Збірник наукових праць Української військово-медичної академії. – 2002. – Вип.11. – С. 43–52.

2. Золотухін С. Е. Травматична хвороба у шахтарів глибоких вугільних шахт Донбасу // Клінічна хірургія. –

1998. – № 10. – С. 33–36.

3. Савченкова Л. В. Експериментальне обґрунтування шляхів лікарської профілактики гіпоксії замкнутого простору в нагріваючому мікрокліматі : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія». – Київ, 1999. – 36 с.

4. Лукьянчук В. Д. Антигипоксанти: состояние и перспективы / В. Д. Лукьянчук, Л. В. Савченкова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1998. – № 4. – С. 72–79.

5. Координаційні сполуки германію – потенційні засоби знешкодження при ендотоксикозі / Лук'яничук В. Д., Кресюн В. Й., Лучишин Т. Р. [та ін.] // Журнал АМН України. – 2012. – Т. 18, № 1. – С. 120–125.

6. Фармакологічні ефекти германійорганічних сполук / І. Й. Сейфулліна, О. Д. Немятих, В. Д. Лук'яничук, Є. В. Ткаченко // Одеський медичний журнал. – 2002. – № 6. – С. 110–114.

7. Порівняльні скринінгові дослідження в ряду координаційних сполук германію на моделі гіпоксії замкнутого простору / Лук'яничук В. Д., Сейфулліна І. Й., Шебалдова К. О. [та ін.] // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаява. – 2013. – № 1. – С. 81–84.

8. Скринінг потенціальних церебропротекторів в ряду нових координаційних сполук германію на моделі тотальної ішемії головного мозку / В. Д. Лук'яничук, Е. В. Крылова, І. Й. Сейфулліна [и др.] // Журнал екстремальної медицини ім. Г. А. Можаява. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 123–126.

9. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / під ред. член. кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2002. – 567 с.

10. Пошук і експериментальне вивчення потенційних протигіпоксичних засобів : методичні рекомендації / Лук'яничук В. Д., Савченкова Л. В., Немятих О. Д., Радіонов В. М. – К. : Авіценна, 2002. – 28 с.

11. Шебалдова Е. А. Использование математического моделирования для разработки оптимального дозового режима потенциального антигипоксанта / Е. А. Шебалдова // III Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов «Молодая фармация – потенциал будущего» 25–26 апреля 2013 г. Санкт-Петербург. – С. 11–12.

12. Вплив мексидолу на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та процеси окисного фосфорилування в мітохондріях міокарда щурів за умов гострої гіпоксії / М. М. Стешенко, О. О. Гончар, В. І. Носарь [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4 (17). – С. 64–69.

13. Неферментативное определение лактата и пирувата в одной пробе / И. Г. Герасимов, Е. Н. Плаксина // Лабораторная диагностика. – 2000. – № 2. – С. 46–47.

14. Методы прижизненного исследования метаболизма сердца / М. Е. Райскина, Е. А. Онищенко, Б. М. Шаргородский [и др.] – М. : Медицина, 1974. – 264 с.

15. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

16. Галенок В. А. Гипоксия и углеводный обмен / В. А. Галенок, В. Е. Диккер. – Новосибирск, 1985. – 194 с.

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF CARBOHYDRATE METABOLIC DISTURBANCES BY VITAGERM-3 IN ANIMALS WITH HYPOXIC SYNDROME

©K. O. Shebaldova, K. M. Mishchenko

SI «Luhansk State Medical University»

SUMMARY. To research the influence of coordination compounds of germanium with diethylentryaminpentacetic acid and potassium (VITAGERM-3) to carbohydrate metabolism in rats with hypoxic syndrome concentrations of glucose and its metabolic products – pyruvic acid and lactate levels were measured and redox potential was calculated. It was discovered that the use of VITAGERM-3 elevated pyruvate level and reduced lactate level compared with controls at all study terms. In that regard, VITAGERM-3 was not inferior to the reference preparations (mexydol). That's a reason to supposed one of the VITAGERM-3 antiischemic mechanisms – the ability of the compound to enhance adaptation response of the body to hypoxic hypoxia by activating of gluconeogenesis, while preventing the development of metabolic acidosis.

KEY WORDS: the germanium compounds, VITAGERM-3, carbohydrate metabolism, hypoxic syndrome.