

УДК:577.121.7:616-055.4:577.24

Д.В. ГАМАН, Н.М. КОНОНЕНКО, М.В. РИБАЛКІН, В.В. ГНАТЮК
Національний фармацевтичний університет

ВПЛИВ ІНОКСАРИЛУ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АДРЕНАЛІНГІДРОКОРТИЗОНОВОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

Вивчений вплив іноксарилу на енергетичний обмін міокарда щурів з експериментальним адреналінгидрокортизоновим інфарктом міокарда. Встановлено, що використання іноксарилу для лікування ішемічного пошкодження міокарда виявляється високоефективним, що мало вираження у нормалізації енергетичних процесів у серцевому м'язі.

Ключові слова: експериментальний адреналінгидрокортизоновий інфаркт міокарда, гіпоксія, іноксарил

ВСТУП

Гіпоксія – один з найбільш поширених патологічних станів, який є причиною широкого спектру функціонально-метаболических порушень в організмі. Циркуляторна гіпоксія, яка виникає в наслідок ішемії, є основною причиною церебральних інсультів та ішемічної хвороби серця [1, 8].

Основна ланка патогенезу гіпоксії пов'язана з невідповідністю енергопотреб клітини та енергопродукції в системі мітохондріального окиснювального фосфорилування [2]. При порушенні мітохондріального окиснення, в першу чергу, зменшується синтез макроергічних сполук (креатинфосфату (КФ), аденозинтрифосфату (АТФ), аденозиндифосфату (АДФ), аденозинмонофосфату (АМФ)) та збільшується вміст неорганічного фосфату. Це призводить до порушення мембранного транспорту, процесів біосинтезу та інших функцій клітини, збільшення внутрішньоклітинної концентрації вільного кальцію та активації перекисного окиснення ліпідів [3, 8, 9, 10]. Разом з тим змінюється вуглеводний обмін: активізуються гліколіз, глікогеноліз, збільшується продукція лактату; зменшується активність НАД-залежних дегідрогеназ циклу Кребса при початковому збереженні активності ФАД-залежної сукцинат-оксидази, яка гальмується при більш вираженій гіпоксії [5]. Поява енергодефіциту знижує інтенсивність енергозалежних

процесів, які відбуваються практично у всіх головних функціонально-метаболических системах – електрогенна функція, механічна, хімічна, осмотична робота, теплопродукція [1]. Також порушується окислення на дикарбоновій (зниження рівня малату), трикарбоновій (зниження рівня ізоцитрату) ділянках циклу Кребса та дихальному ланцюзі (зниження активності цитохром-С-оксидази) [4]. Таким чином, зміни, які відбуваються в кардіоміоцитах призводять до погіршення енергетичного обміну в серцевому м'язі.

Метою нашої роботи було вивчення впливу нової похідної α -ариламідо- α -(2-оксоіндоліліден-3)-оцтової кислоти, з умовною назвою іноксарил, на енергетичний обмін у серцевому м'язі щурів в умовах адреналінгидрокортизонового інфаркту міокарда.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експеримент був проведений на 40 нелінійних білих щурах обох статей масою 200 ± 10 г. Модель гострого адреналінгидрокортизонового інфаркту міокарда відтворювали підшкірним введенням 0,1 % розчину адреналіну гідрохлориду в дозі 1 мг/кг маси тварин та 2,5 % емульсії гідрокортизону ацетату у дозі 12,5 мг/кг двічі на добу протягом одного тижня. Досліджувану сполуку вводили внутрішньоочеревинно в дозі $ED_{50} = 13,9$ мг/кг один раз на добу у вигляді водної суспензії з додаванням твіну-80. У якості препарату порівняння був обраний мексидол, який вводили внутрішньоочеревинно в дозі $ED_{50} = 100$ мг/кг [6]. Тварин поділяли на 4 групи: 1 група – ін-

© Д.В. Гаман, Н.М. Кононенко, М.В. Рибалкін,
 В.В. Гнатюк, 2012

тактні тварини, яким внутрішньоочеревинно вводили ізотонічний розчин натрію хлориду; 2 група – тварини з адреналінгидрокортизоновим інфарктом міокарда (контроль); 3 група – тварини з адреналінгидрокортизоновим інфарктом міокарда та лікуванням іноксарилом; 4 група – тварини з адреналінгидрокортизоновим інфарктом міокарда та лікуванням мексидолом.

Показники електрокардіограми знімали на електрокардіографі багатоканальному, модель ЕК 1Г-03М2 у попередньо наркотизованих тварин у II-му стандартному відведенні при $mV=10$ мм та швидкості руху стрічки 50 мм/с [14]. Енергетичний стан серцевого м'язу вивчали за вмістом аденінових нуклеотидів у міокарді – АТФ, АДФ, АМФ та макроергу КФ спектрофотометричним методом Лампрехта і Тротшоляда [11]. Для визначення активності цитохромоксидази ми використовували метод з N,N-диметилпарафенілендіаміном, в результаті окислення якого утворюється пігмент з максимумом поглинання при довжині хвилі 510 нм, в кількості, пропорційній цитохромоксидазній активності [11]. Активність ферменту вимірювали спектрофотометрично за приростом поглинання при довжині хвилі 340 нм у реакційній сумішці, яка складається з ферменту, малату, НАДФ, іонів Mn^{2+} при $pH=7,2$ [12]. Активність субстратів, які беруть участь в енергетичному метаболізмі серцевого м'язу: глікогену та Г-6-Ф визначали

фотометричним методом; глутамату – фотоколориметричним методом; малату – флюорометричним методом; ізоцитрату, аспартату, глутамату, лактату та пірувату – спектрофотометричним методом [13].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що в умовах адреналінгидрокортизонового інфаркту міокарда спостерігалися порушення енергетичного метаболізму: змінювалась продукція макроергів, відбувалась активація гліколізу, дискоординація циклу Кребса, виснаження вуглеводного резерву та гальмування компенсаторних шунтів енергії.

На 7 добу експерименту в умовах адреналінгидрокортизонового інфаркту міокарда, в порівнянні з інтактними щурами, знизився вміст усіх трьох аденінових нуклеотидів в зоні інфаркту міокарда (відносно інтактних тварин ($p \leq 0,05$)): АТФ – на 63 %, АДФ – на 69 %, АМФ – на 64 %. Також знизився вміст макроергу КФ на 61 % відносно інтактних тварин, який бере участь у перенесенні неорганічного фосфату на АДФ з утворенням АТФ (табл.).

Під впливом іноксарилу на 7 добу експерименту вміст аденінових нуклеотидів збільшувався і майже сягав показників інтактних тварин: АТФ підвищувалась на 152 %, АДФ – на 180 %, але вміст АМФ продовжував знижуватися на 35 % відносно контрольних тварин ($p \leq 0,05$).

Таблиця

ПОКАЗНИКИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ МІОКАРДА ЩУРІВ ПРИ АДРЕНАЛІНГІДРОКОРТИЗОНОВОМУ ІНФАРКТІ МІОКАРДА ($\bar{X} \pm Sx$, N=10)

Показники	Інтактні щури	Інфаркт міокарда (контроль)	Інфаркт міокарда+ іноксарил	Інфаркт міокарда+ мексидол
7 доба експерименту				
АТФ, мкмоль/г	3,38±0,30	1,25±0,07*	3,15±0,20**	2,71±0,20**
АДФ, мкмоль/г	1,62±0,06	0,51±0,04*	1,43±0,05**/**	0,84±0,03**/**
АМФ, мкмоль/г	0,55±0,05	0,20±0,01*	0,13±0,02**/**	0,17±0,02**/**
КФ, мкмоль/г	5,12±0,04	2,01±0,05*	4,45±0,03**/**	3,71±0,02**/**
Глікоген, мг/г	13,5±0,3	2,3±0,1*	10,5±0,4**/**	7,40±0,2**/**
Г-6-Ф, мкмоль/г	0,79±0,01	0,48±0,01*	0,75±0,02**/**	0,66±0,01**/**
Лактат, мкмоль/г	2,45±0,20	9,77±0,22*	3,18±0,12**/**	4,25±0,20**/**
Піруват, мкмоль/г	0,16±0,01	0,06±0,01*	0,14±0,01**	0,11±0,01**/**
Ізоцитрат, мкмоль/г	0,54±0,01	0,43±0,01*	0,52±0,01**	0,49±0,01**/**
Аспартат, мкмоль/г	14,9±0,24	12,5±0,20*	14,5±0,20**/**	13,8±0,14**/**
Глутамат, мкмоль/г	25,1±0,55	18,5±0,40*	24,5±0,44**/**	22,3±0,50**/**
Малат, мкмоль/г	0,76±0,01	0,35±0,01*	0,72±0,02**/**	0,65±0,01**/**
ЦХО, мкмоль/мг·хв.	7,20±0,52	2,40±0,21*	6,50±0,24**/**	5,80±0,22**/**
МДГ, мкмоль/мг·хв.	7,25±0,06	5,24±0,08*	7,00±0,10**/**	6,30±0,10**/**

Примітки: * $p < 0,05$ – відносно інтактних щурів;

** $p < 0,05$ – відносно контролю;

*** $p < 0,05$ – відносно мексидолу;

n – кількість тварин у групі.

Продукція КФ знизилась на 121 % відносно контрольних тварин ($p \leq 0,05$) (табл.).

Ефективність мексидолу була нижчою, ніж у іноксарилу, про що свідчили показники вмісту аденінових нуклеотидів відносно контролю: АТФ підвищувалась на 117 %, АДФ – на 65 %, вміст АМФ був нижчим ніж у контрольних тварин, але збільшився відносно тварин, яким вводили іноксарил на 30 % ($p \leq 0,05$) (табл.).

Слід відзначити, що на 7 добу моделювання адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда вміст глікогену в міокарді знижувався щурів на 83 %, Г-6-Ф – на 40 %, пірувату – на 63 %, ізоцитрату – на 20 %, аспартату – на 16 %, відносно інтактних тварин ($p \leq 0,05$). Також підвищувалась вміст лактату – на 300 % відносно інтактних тварин ($p \leq 0,05$) (табл.).

Введення іноксарилу при адреналінгідрокортизоновому інфаркті міокарда перешкоджало виснаженню субстратів окислення – вміст глікогену підвищувався на 357 % та Г-6-Ф на 56 % відносно контрольних тварин ($p \leq 0,05$); при цьому зменшувалась активність малопродуктивного анаеробного гліколізу, про що свідчило зниження рівня лактату на 67 % та збільшення вмісту пірувату на 133 % відносно контролю ($p \leq 0,05$), нормалізувалося окислення у циклі Кребса на дикарбоновій (підвищення рівня малату на 106%, аспартату – на 16 % відносно контролю, $p \leq 0,05$) та трикарбоновій (підвищення рівня ізоцитрату на 20 % відносно контролю, $p \leq 0,05$) ділянках (табл.). При лікуванні мексидолом на 7 добу експерименту також поліпшувався метаболічний стан міокарда, але не перевершував показників тварин, які отримували іноксарил.

Іноксарил нормалізував окислення у дихальному ланцюзі, про що свідчило підвищення активності цитохром-С-оксидази на 171 % відносно тварин контрольної групи (табл.).

Важливим моментом у механізмі енерготропної дії іноксарилу був його активуючий вплив на компенсаторний малат-аспартатний шунт. Малат-аспартатний шунт здійснює перенесення відновлених еквівалентів, які утворюються в цитоплазмі в ході гліколізу, у мітохондрії в умовах ішемії. Утворені в цитоплазмі в умовах зниженого вмісту кисню НАДН⁺ використовується для перетворення щавелевооцтової кислоти в малат, який проникає у мітохондрії та бере участь в експорті α -кетоглутарату, після чого перетворюється в щавелевооцтову кислоту з утворенням НАДН, доступного для електронотранспортного ланцюга (з 2 протонів утворюється 3 молекули АТФ). Щавелевооцтова кислота, яка утворилась з малату, перетворюється в α -кетоглутарат та аспартат. α -Кетоглутарат виходить з мітохондрій в об-

мін на малат, а аспартат обмінюється на глутамат. Перенесення відбувається за рахунок градієнту глутамату та високого внутрішньомітохондріального відношення глутамат/аспартат. Відношення НАДН/НАД⁺ та малат/щавелевооцтова кислота регулюється малатдегідрогеназою (МДГ) [4].

При моделюванні адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда спостерігалось порушення активності малат-аспартатного шунта (відносно інтактних тварин ($p \leq 0,05$)), яке виражалось у зниженні активності МДГ на 28 %, зменшенні рівня малату – на 54 %, аспартату – на 16 % та глутамату на 26 % (табл.).

При введенні іноксарилу щурам з адреналінгідрокортизоновим інфарктом міокарда зменшувалося гальмування активності малат-аспартатного шунта, про що свідчить підвищення активності малатдегідрогенази на 34 %, збільшення вмісту малату на 106 %, аспартату – на 16 % та глутамату – на 32 % відносно контролю ($p \leq 0,05$) (табл.).

Таким чином, іноксарил здатний збільшувати швидкість утилізації енергії макроергічного зв'язку міокардіальними клітинами, не викликаючи виснаження запасів макроергів та поліпшувати енергетичні процеси у міокарді. При порівнянні ефектів іноксарилу і мексидолу виявлено, що іноксарил більшою мірою попереджував порушення енергетичного обміну у серцевому м'язі в умовах адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Коваль І.В. Современные подходы к фармакологической коррекции гипоксических состояний / И.В. Коваль, Н. В. Вдовенко, В.А. Козловський // Спортивная медицина. – 2008. – № 1. – С. 36-41.
2. Борукаева И.Х. Некоторые аспекты адаптации к гипоксии / И.Х. Борукаева, А.Б. Иванов, З.Х. Абазова // Физиологический журнал. – 2008. – Т. 54, № 4. – 60 с.
3. Олейник С.А. Антигипоксиканты в спортивной медицине и практике спортивной подготовки / С.А. Олейник, Н.А. Горчакова, Л.М. Гунина // Спортивная медицина. – 2008. – № 1. – С. 66-73.
4. Толстикова Т.Г. Некоторые аспекты метаболического механизма кардиопротекторного действия тиотриазолина при артериальной гипертензии / Т.Г. Толстикова, М.В. Хвостов, А.О. Брызгалов // Запорожский мед. журнал. – 2010. – № 5, Т. 12. – С. 74-76.
5. Свириева И.В. Ответ митохондрий сердца на патологический стресс / И.В. Свириева,

- Э.К. Рууге, С.А. Губкина // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : междунар. науч. конф., г. Минск, 21-23 июня 2006 г. – Минск, 2006. – сборник статей. – Т. II. – С. 239-241.
6. Яснецов В.В. Исследование противогипоксических и антиамнестических свойств мексидола и семакса / В.В. Яснецов, Т.А. Воронина // Эксперимент. и клин. фармакол. – 2010. – № 4. – С. 2-7.
 7. Шевченко Н.М. Кардиология / Н.М. Шевченко // М. : МИА, 2006. – 544 с.
 8. Adam-Vizi V. Bioenergetics and the formation of mitochondrial reactive oxygen species / V. Adam-Vizi, C. Chinopoulos // Trends Pharmacol. Sci. – 2006. – Vol. 27, № 12. – P. 639-645.
 9. Andreyev A.Y. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species / A.Y. Andreyev, Y.E. Kushnareva, A.A. Starkov // Biochemistry. – 2005. – Vol. 70, №2. – P. 200-214.
 10. Dix T.A. Mechanisms and biological significance of lipid peroxidation initiation / T.A. Dix, J. Aikens // Chem. Res. Toxicol. – 2005. – Vol. 6. – P. 2-18.
 11. Прохорова М. А. Современные методы в биохимии / М. А. Прохорова // Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. – 368 с.
 12. Воронина Т.А. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармацевтических веществ / Т.А. Воронина, С.Б. Середины // МЗ РФ: ЗАО ИИА Ремедиум, 2002. – 320 с.
 13. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии / В.С. Асатиани, Н.П. Мешкова // М.: Изд-во Академии Наук, 1957. – 536 с.
 14. Орлов В.Н. Руководство по электрокардиографии / В.Н. Орлов. // Москва: Медицина, 1984. – 528 с.

УДК: 577.121.7: 616-055.4: 577.24

Д.В. Гаман, Н.Н. Кононенко, Н.В. Рыбалкин, В.В. Гнатюк

**ВЛИЯНИЕ ИНОКСАРИЛА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН
СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
АДРЕНАЛИНГИДРОКОРТИЗОнового ИНФАРКТА МИОКАРДА**

Изучено влияние иноксарила на энергетический обмен миокарда крыс с экспериментальным адреналин-гидрокортизоновым инфарктом миокарда. Установлено, что использование иноксарила для лечения ишемического повреждения миокарда является высокоэффективным, что проявлялось в нормализации энергетических процессов в сердечной мышце.

Ключевые слова: экспериментальный адреналин-гидрокортизоновый инфаркт миокарда, гипоксия, иноксарил

UDC: 577.121.7:616-055.4:577.24

D.V. Gaman, N.N. Kononenko, N.V. Ribalkin, V.V. Hnatiuk

**INFLUENCE OF THE INOXARIL ON THE ENERGETIC EXCHANGE OF THE CARDIAC MUSCLE
IN EXPERIMENTAL ADRENALINHYDROKORTIZON MYOCARDIUM HEART ATTACK**

There was investigated the influence of inoxaril on a energetic exchange of a myocardium of rats with the experimental adrenalinhydrokortizon myocardium heart attack. There was established that use inoxaril for treatment of ischemic injury of a myocardium is highly effective. That was shown by normalization of energetic processes in a cardiac muscle.

Key words: experimental adrenalinhydrokortizon myocardium heart attack, hypoxia, inoxaril

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12,
Кафедра патологічної фізіології НФАУ.
Тел.: (057) 706-30-66.
E-mail: pathology@ukrfa.ru

Надійшла до редакції:

06.06.2012