

УДК 547.455.623'233.1:547.814.5:616.127-002

Ель Аараж Ахмад, І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, О.О. Тарасенко

Національний фармацевтичний університет

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ МІОКАРДУ ПІД ВПЛИВОМ КОМБІНАЦІЇ КВЕРЦЕТИНУ З ПОХІДНИМИ ГЛЮКОЗАМІНУ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ФУРАЗОЛІДОН-ІЗАДРИНОВОГО МІОКАРДИТУ

Наведено результати вивчення впливу комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну на функціональний стан міокарду щурів за умов розвитку фуразолідон-ізадринового міокардиту у порівнянні з дією її активних монокомпонентів – суміші аміноцукрів та кверцетину. Показано нормалізуючий вплив досліджуваної комбінації на біохімічні показники щурів – рівень АсАТ та глюкози крові, ТБК-реактивних міокарду, обмін ендogenous N-ацетилглюкозаміну, а також функціональні показники міокарду – ЕКГ та ваговий коефіцієнт. Представлені дані свідчать про виражену кардіопротекторну дію досліджуваної комбінації, механізм якої є полівалентним, і обумовлюється мембранотропним й антиоксидантним видами активності та компенсаторною будовою аміноцукрів до уражених кардіоміоцитів. Отримані результати свідчать про доцільність подальшого вивчення комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну у якості кардіопротекторного засобу для використання у комплексній терапії пацієнтів із запально-деструктивними та ішемічними захворюваннями міокарду.

Ключові слова: глюкозаміну гідрохлорид; N-ацетилглюкозамін; кверцетин; фуразолідон-ізадриновий міокардит; кардіопротекторна дія, самці-щери

ВСТУП

Згідно зі світовою статистикою охорони здоров'я в структурі смертей від неінфекційної патології практично у всіх країнах світу превалюють серцево-судинні захворювання (48 %). За даними ВООЗ прогнозується щорічне збільшення смертності від кардіоваскулярних захворювань в масштабах планети з 17 млн. у 2008 р. до 25 млн. у 2030 р. [19]. В Україні смертність від серцево-судинних захворювань в 2010 р. склала 66,6 % всіх випадків, при цьому у чоловіків 50-55 років ішемічна хвороба серця (ІХС) зустрічається у 23,2 %, а в старшому віці її частота ще збільшується [17].

У зв'язку з цим не припиняється пошук способів поліпшення тривалості та якості життя хворих на ІХС. Одним з них є оптимізація метаболічних процесів в міокарді шляхом відновлення порушених біохімічних процесів і пов'язаних з ними пошкоджень кардіоміоцитів. Розвиток у ішемізованому міокарді таких патофізіологічних процесів, як клітинний ацидоз, локальне за-

палення і пошкодження мембран кардіоміоцитів, зменшення синтезу АТФ і пероксидація визначають очевидну необхідність застосування в комплексній терапії ІХС лікарських препаратів, дія яких направлена на відновлення клітинної цілісності міокарда і нормалізацію балансу між інтенсивністю ПОЛ і антиоксидантним захистом [1].

Препаратами, які здатні обривати ланцюг реакцій ПОЛ або безпосередньо руйнувати молекули перекисів, є антиоксиданти. Серед речовин цієї групи особливої уваги заслуговує флавоноїд кверцетин. Він має виражені антиоксидантні, антирадикальні, мембраностабілізуючі властивості [13, 15], антиагрегантну дію [3], попереджає підвищення рівня калью в клітинах, виявляє вазопротекторний вплив, пов'язаний зі здатністю вивільняти оксид азоту та інгібувати протеїнкіназу [14] і, як наслідок, виражену кардіопротекторну активність [7, 8].

В аспекті підвищення ефективності кверцетину певний інтерес представляє аміноцукор глюкозамін. Наявність широкого спектру фармакологічної дії, в основі якого лежать загальні протекторні властивості щодо всіх органів і тканин організму людини, дозволяє припус-

тити можливість його синергічного впливу на активність кверцетину. Глюкозамін входить до складу структурних компонентів клітинних мембран, що має вагоме значення в забезпеченні механічної стійкості і пластичності клітин і, зокрема кардіоміоцитів, а також має здатність нейтралізувати вільні радикали і окисні агенти, кількість яких підвищується в умовах ішемії [2]. У ряді експериментальних досліджень доведена наявність у глюкозаміну кардіопротекторної активності, яка обумовлена мембраностабілізуючою та антиферментною дією [12].

Крім фармакодинамічного синергізму можлива і фармакокінетична взаємодія глюкозаміну та кверцетину. Результати останніх досліджень показують здатність даного аміноцукру підвищувати біодоступність кверцетину при пероральному прийомі [9].

Метою представленого дослідження стало експериментальне вивчення функціонального стану міокарду за умов розвитку фуразолідон-ізадринного міокардиту під впливом комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну – глюкозаміну гідрохлоридом та N-ацетилглюкозаміном.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження кардіопротекторних властивостей комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну проведено на моделі фуразолідон-ізадринного міокардиту (ФІМ) у щурів [3]. У дослідженні було використано 50 білих нелінійних щурів обох статей масою 170-180 г, що утримувалися у віварії Національного фармацевтичного університету згідно зі стандартними санітарними вимогами. Експерименти були виконані відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються у експериментальних і інших наукових цілях» [16].

Всі тварини розподілялись на 5 дослідних груп по 10 тварин: 1 група – інтактний контроль; 2 група – контрольна патологія; 3 група – тварини, які отримували комбінацію кверцетину з похідними глюкозаміну в дозі 81,9 мг/кг (ЕД₅₀ за протизапальною активністю [5]); 4 група – тварини, що отримували суміш аміноцукрів (глюкозаміну гідрохлорид та N-ацетилглюкозамін 1:1) в дозі 61,4 мг/кг (еквівалентно вмісту у дослідній комбінації); 5 група – тварини, яким вводили кверцетин у дозі 20,5 мг/кг (еквівалентно вмісту у дослідній комбінації).

Альтеративне ураження міокарду викликали сумісним введенням фуразолідону в дозі 200 мг/кг внутрішньоочеревинно та ізадрину 40 мг/кг внутрішньом'язово [3]. Введення досліджуваних об'єктів проводили щоденно внутрішньощлунково на протязі 5 днів, починаючи з першого дня

відтворення патології. По закінченні експерименту у сироватці крові щурів визначали рівень АсАТ та глюкози, у гомогенаті міокарду – вміст ТБК-реактивів [6]. Крім того визначали вміст ендогенного N-ацетилглюкозаміну (N-ацГА) у крові та тканині міокарду [4]. Дослідження електрофізіологічного стану міокарду включало визначення та аналіз таких показників ЕКГ, як частота серцевих скорочень (ЧСС), амплітуда зубця R, розташування сегменту ST [11]. Для оцінки ступеню набрякlostі міокарду визначався ваговий коефіцієнт серця (ВКС).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Ст'юдента та непараметричних методів аналізу [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При вивченні функціонального стану міокарду у тварин групи контрольної патології в сироватці крові спостерігався вірогідний ріст рівнів маркера альтерації серцевого м'язу АсАТ та глюкози в 2,3 та 1,9 разу відповідно. Про активацію ПОЛ свідчить рівень ТБК-реактивів, що збільшився в 2,1 разу у гомогенаті міокарду щурів даної групи. Рівень ендогенного N-ацГА в сироватці крові підвищився, а в ураженому міокарді зменшився в 16 разів (табл. 1).

На фоні застосування комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну вірогідно знизився рівень ферментемії, нормалізувалися процеси ПОЛ – рівень ТБК-чутливих речовин у серцевій тканині знизився в 1,7 разу. Також спостерігалося усунення гіперглікемії, що виникала внаслідок активації гліколізу. Окрім того нормалізувався вміст N-ацГА в сироватці крові та тканині міокарду, що говорить про зниження інтенсивності запально-деструктивних процесів. Отримані дані свідчать про достатньо високий рівень кардіопротекторних властивостей досліджуваної комбінації (табл. 1).

Результати застосування суміші аміноцукрів свідчать, що за направленістю впливу на рівень ферментемії і гіперглікемії даний об'єкт не відрізнявся від комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну. Рівень ТБК-реактивів в гомогенаті міокарду знижувався, проте був вірогідно вищим, ніж у інтактній групі та у тварин, що отримували дослідну комбінацію. В той же час показники обміну N-ацГА наближувалися до норми (табл. 1).

При застосуванні кверцетину відбувалось вірогідне зниження рівнів АсАТ, цукру крові та ТБК-реактивів у тканині міокарду. Дані показники статистично не від-

Таблиця 1

**ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЩУРІВ
З ФУРАЗОЛІДОН-ІЗАДРИНОВИМ МІОКАРДИТОМ (N=50)**

Умови досліджу	АсАТ крові, мккат/л	Глюкоза крові, ммоль/л	ТБК-реактанти міокарду, мг/г	Ендогенний N-ацетилглюкозамін	
				сироватка крові, ммоль/л	тканина міокарда, мг/г
Інтактний контроль (n=10)	0,85±0,23	2,75±0,16	101,2±8,1	5,29±0,54	0,145±0,011
Контрольна патологія (n=10)	1,96±0,11 ¹	5,17±0,38 ¹	215,4±11,2 ¹	6,73±0,55	0,009±0,001 ¹
Дослідна комбінація (n=10)	1,30±0,12 ²	3,06±0,33 ²	124,2±8,2 ²	4,02±0,19 ^{1,2}	0,102±0,027 ²
Суміш аміноцукрів (n=10)	1,33±0,15 ²	3,16±0,28 ²	156,1±9,5 ^{1,2,3}	5,69±0,30 ³	0,093±0,024 ²
Кверцетин (n=10)	1,47±0,19 ²	3,47±0,31 ²	158,6±3,4 ^{1,2,3}	5,98±0,67 ³	0,028±0,002 ^{1,2,3}

Примітки:

- 1 – відмінності, вірогідні відносно інтактних тварин;
 2 – відмінності, вірогідні відносно групи контрольної патології;
 3 – відмінності, вірогідні відносно тварин, що отримували комбінацію кверцетину з похідними глюкозаміну.

Таблиця 2

**ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ НА ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО
СТАНУ МІОКАРДУ ЩУРІВ З ФУРАЗОЛІДОН-ІЗАДРИНОВИМ МІОКАРДИТОМ (N=50)**

Умови досліджу	Показники ЕКГ, D до вихідних даних			ВКС, %
	R, mV	ЧСС, уд./хв	Підйом ST над ізолінією, мм	
Інтактний контроль (n=10)	–	–	–	0,36±0,02
Контрольна патологія (n=10)	-0,180±0,003 ¹	+45,9±5,1 ¹	2,10±0,17 ¹	0,45±0,01 ¹
Дослідна комбінація (n=10)	-0,073±0,002 ²	-28,7±4,3 ²	0,36±0,08 ²	0,38±0,01 ²
Суміш аміноцукрів (n=10)	+0,150±0,002 ^{1,2,3}	+53,4±8,6 ^{1,3}	1,34±0,25 ^{1,2,3}	0,45±0,02 ^{1,3}
Кверцетин (n=10)	+0,100±0,012 ^{2,3}	-13,2±2,1 ^{2,3}	0,80±0,19 ^{2,3}	0,41±0,02

Примітки:

- 1 – відмінності, вірогідні відносно інтактних тварин;
 2 – відмінності, вірогідні відносно групи контрольної патології;
 3 – відмінності, вірогідні відносно тварин, що отримували комбінацію кверцетину з похідними глюкозаміну.

різнялися під аналогічних показників групи інтактного контролю, за винятком вмісту ТБК-реактивних. На рівень ендогенного N-ацГА в сироватці крові та тканині міокарда кверцетин не чинив значимого впливу та за цими показниками поступався дослідній комбінації (табл. 1).

При сумісному впливі фуразолідону та ізадрину спостерігалися електрофізіологічні порушення діяльності серцевого м'язу у тварин групи контрольної патології, що проявлялося вираженим вірогідним зниженням амплітуди зубця R, підвищенням ЧСС та підйомом сегмента ST над ізолінією (табл. 2). У цій групі вірогідно, на 25 % по відношенню до інтактного контролю, підвищувався ВКС, що, скоріш за все, є відображенням ексудативних процесів в міокарді, які мають місце при розвитку даної патології.

Отримані результати свідчать, що комбінація кверцетину з похідними глюкозаміну вірогідно

зменшує підйом сегменту ST над ізолінією, нормалізує амплітуду зубця R, що доводить її здатність до функціонального відновлення ураженої серцевої тканини (табл. 2). Про зменшення набряку стромми міокарду. Отже, про зниження активності запального процесу свідчить вірогідне зниження ВКС по відношенню до контрольної патології.

Дія суміші аміноцукрів характеризувалась вірогідним підвищенням амплітуди зубця R, зниженням підйому сегменту ST над ізолінією, невірогідним ростом ЧСС по відношенню до контрольної патології. ВКС тварин даної групи був аналогічним контрольному показнику. Водночас, всі дані ЕКГ-дослідження, ВКС щурів, що отримували суміш аміноцукрів, мали вірогідні відмінності від аналогічних показників тварин, яким вводили комбінацію кверцетину з похідними глюкозаміну (табл. 2).

Кверцетин вірогідно зменшував амплітуду зубця R, ЧСС, наближуючи їх показники до

інтактного рівня, статистично значимо зменшував ступінь підйому сегменту ST над ізолінією, проте, даний параметр не наближався до ізолінії і залишався вірогідно більш високим, ніж у тварин, які отримували дослідну комбінацію. ВКС під впливом кверцетину зменшувався, проте вірогідно не відрізнявся, як від групи інтактного контролю, так і контрольної патології.

Таким чином, результати представленого дослідження свідчать про виражену кардіопротекторну дію комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну, механізм якої є полівалентним, і обумовлюється мембранотропним й антиоксидантним видами активності, які були визначені в ході експерименту, та компенсаторною вбудовою аміноцукрів до уражених кардіоміоцитів.

ВИСНОВКИ

Комбінація кверцетину з похідними глюкозаміну виявляє виражену кардіопротекторну дію при застосуванні у щурів за умов розвитку фуразолідон-ізадринового міокардиту.

Кардіопротекторний ефект комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну пов'язаний із антиоксидантною (вплив на рівень ферментемії, гіперглікемії та інтенсивність процесів ПОЛ), мембраностабілізуючою (динаміка показників ЕКГ) та мембранотропною (вплив на вміст ендогенного N-ацетилглюкозаміну) видами дії, і за ефективністю перевершує ступінь активності її монокомпонентів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Бобров В.О. Адаптаційні ішемічні та реперфузійні синдроми у хворих ішемічною хворобою серця: механізми, діагностика, обґрунтування терапії / В.О. Бобров, С.К. Кулішов. – Полтава: Дивосвіт, 2004. – 240 с.
- Вивчення гепатопротекторної та антиоксидантної активностей глюкозаміна гідрохлориду та його похідних при гострому ураженні печінки тетрахлорметаном / С.В. Місюрнова, І.А. Зупанець, С.Г. Ісаєв та ін. // Вісник фармації. – 2002. – №3 (31). – С. 74-77.
- Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рек. / под ред. А.В. Стефанова. – К: Авиценна, 2002. – 528 с.
- Зупанець І.А. Уніфікація методів кількісного визначення ендогенного глюкозаміну в біологічному матеріалі / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко // Фармаком. – 2005. – № 4. – С. 56-61.
- Зупанець К.О. Дослідження токсичних та протизапальних властивостей композиції на основі аміноцукрів – похідних глюкозаміну та флавоноїду кверцетину / К.О. Зупанець, С.Б. Попов, І.А. Отрішко // Клінічна фармація. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 50-53.
- Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справ. в 2 т. Т. 1 / В.С. Камышников. – 2-е изд. – Мн.: Интерпрессервис, 2003. – 495 с.; Т. 2. – 463 с.
- Ковалев В.Б. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы) / В.Б. Ковалев, В.В. Ковган, Е.Ю. Колчина // Український медичний альманах. – 1999. – Т. 2, № 4. – С. 176-182.
- Мойбенко А.А. Патогенетическое обоснование эффективности нового отечественного кардиопротектора корвитина (водорастворимого кверцетина) при остром инфаркте миокарда / А.А. Мойбенко // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – №5. – С. 38-47.
- Порівняльне вивчення фармакокінетики кверцетину та його композиції з аміноцукрами – похідними глюкозаміну / К.О. Зупанець, С.К. Шебеко, Ю.В. Підпруджников та ін. // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 3 (44). – С. 81-86.
- Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – 3-е изд. – М.: МедиаСфера, – 2006. – 312 с.
- Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – Москва, 2010. – 344 с.
- Семенов А.Н. Электронно-микроскопическое изучение кардиопротекторного действия производных D-(+)-глюкозамина при фуразолидоново-алкогольной кардиомиопатии у белых крыс / А.Н. Семенов // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, № 2. – С.185-188.
- Effects of chronic quercetin treatment on antioxidant defence system and oxidative status of deoxycorticosterone acetate-salt-hypertensive rats / M. Galisteo, M.F. Garcia-Saura, R. Jimenez et al. // Molecular & Cellular Biochemistry. – 2004. – Vol. 259. – P. 91-99.
- Effect of quercetin on metallothionein, nitric oxide synthases and cyclooxygenase-2 expression on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats / A.I. Morales, C. Vicente-Sánchez, M. Jerkic et al. // Toxicology & Applied Pharmacology. – 2006. – Vol. 210. – P. 128-135.
- Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: cyclooxygenases and lipoxygenases / Y.S. Chi,

- H.G. Jong, K.H. Son et al. // *Biochemistry & Pharmacology*. – 2001. – № 62. – P. 1185-1191.
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
17. European Detailed Mortality Database. – WHO Regional Office for Europe, 2012. – <http://data.euro.who.int/dmdb>.
18. Flavonoids inhibit platelet function through binding to the thromboxane A₂ receptor / J.A. Guerrero, M.L. Lozano, J. Castillo [et al.] // *Journal of Thrombosis & Haemostasis*. – 2005. – № 3. – P. 369-376.
19. World Health Statistics 2012. – WHO, 2012. – 176 p. – http://www.who.int/healthinfo/EN_WHS2012_Full.pdf.

УДК: 547.455.623'233.1:547.814.5:616.127-002**Эль Аараж Ахмад, И.А. Зупанец, С.К. Шебеко, О.А. Тарасенко****ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИОКАРДА ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМБИНАЦИИ КВЕРЦЕТИНА С ПРОИЗВОДНЫМИ ГЛЮКОЗАМИНА В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ФУРАЗОЛИДОН-ИЗАДРИНОВОГО МИОКАРДИТА**

Представлены результаты изучения влияния комбинации кверцетина с производными глюкозамина на функциональное состояние миокарда крыс в условиях развития фуразолидон-изадринового миокардита в сравнении с действием ее активных моноконпонентов – смеси аминсахаров и кверцетина. Показано нормализующее влияние исследуемой комбинации на биохимические показатели крыс – уровень АсАТ и глюкозы крови, ТБК-реактантов миокарда, обмен эндогенного N-ацетилглюкозамина, а также функциональные показатели миокарда – ЭКГ и массовый коэффициент. Представленные данные свидетельствуют о выраженном кардиопротекторном действии исследуемой комбинации, механизм которого является поливалентным, и обусловлен мембранотропным и антиоксидантным видами активности и компенсаторным встраиванием аминсахаров в пораженные кардиомиоциты. Полученные результаты обуславливают целесообразность дальнейшего изучения комбинации кверцетина с производными глюкозамина в качестве кардиопротекторного средства для использования в комплексной терапии пациентов с воспалительно-деструктивными и ишемическими заболеваниями миокарда.

Ключевые слова: глюкозамина гидрохлорид; N-ацетилглюкозамин; кверцетин; фуразолидон-изадриновый миокардит; кардиопротекторное действие

UDC: 547.455.623'233.1:547.814.5:616.127-002**El Aarage Ahmad, I.A. Zupanets, S.K. Shebeko, O.A. Tarasenko****THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE MYOCARDIUM FUNCTIONAL STATE UNDER THE INFLUENCE OF COMBINATION OF QUERCETINE WITH THE DERIVATES OF GLUCOSAMINE IN CONDITIONS OF FURASOLIDONE-ISADRINE MYOCARDITIS DEVELOPMENT**

It has been presented the results of studying of the influence of the combination of quercetine with glucosamine derivatives on the rat's myocardium functional state in conditions of furasolidone-isadrine myocarditis development as compared with the action of its active monocomponents – mixture of aminosugars and quercetine. It has been shown a normalizing effect on the research combination on rat's biochemical parameters – the level of blood AsAT and glucose, myocardium TBA-reactants, the metabolism of endogenous N-acetylglucosamine, as well as myocardium functional indicators – ECG and the mass coefficient. The presented data show pronounced cardioprotective effect of the research combination, which mechanism is polyvalent, and is associated with the membranotropic and antioxidant types of activity and the compensatory embedding of aminosugars in the affected cardiomyocytes. The received results are cause for expediency of subsequent study of the combination of quercetin with glucosamine derivatives as a cardioprotective drug for use in the complex treatment of the patients with inflammatory-destructive and ischemic diseases of myocardium.

Key words: glucosamine hydrochloride; N-acetylglucosamine; quercetine; furasolidone-isadrine myocarditis; cardioprotective action

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 27,
Кафедра клінічної фармакології
з фармацевтичною опікою НФАУ.
E-mail: clinpharm@ukrfa.kharkov.ua

Надійшла до редакції:
25.04.2012