ВПЛИВ НОВОГО МЕТАБОЛІТОТРОПНОГО КАРДІОПРОТЕКТОРА «ЛІЗИНІЙ» НА СТАН ЛІМІТУЮЧИХ ЛАНОК ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ І КОМПЕНСАТОРНИХ МЕТАБОЛІЧНИХ ШУНТІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

І.Ф.Бєленічев, Л.І.Кучеренко, І.А.Мазур, Н.В.Бухтіярова, В.С.Стеблюк, І.В.Павлюк, Г.В.Георгієвський*

Запорізький державний медичний університет
Український науково-експертний центр якості лікарських засобів*

Ключові слова: метаболітотропні кардіопротектори; «Лізиній»; інфаркт міокарда; енергетичний метаболізм

Призначення «Лізинію» (2,5% розчин для ін'єкцій, розробка НВО «Фарматрон») у дозі 50 мг/кг паралельно формуванню експериментального гострого інфаркту міокарда приводить до нормалізації енергетичного метаболізму серця за рахунок інтенсифікації аеробних реакцій і компенсаторної активації малат-аспартатного шунта, зниження анаеробного гліколізу і покращення функцій мітохондрій і таким чином формує стійкість міокарда до гіпоксії за рахунок перебудови енергетичних шляхів, яка передбачає мобілізацію механізмів постачання протонів для окиснювального фосфорилювання та економного використання кисню, якого не вистачає. Застосування «Лізинію» за силою терапевтичного впливу достовірно перевищує ефективність референс-препарату мілдронату.

Початок нинішнього століття ознаменувався значним розповсюдженням серцево-судинних захворювань, які посіли 2-3 місце в структурі смертності промислово розвинених країн. Лідируюче місце серед серцево-судинної патології займає ІХС і один з її грізних проявів – інфаркт міокарда [1, 12, 14, 15], тому розробка засобів лікування патологій серцево-судинної системи є актуальною задачею сучасної медицини. В основі патологічних процесів, що розвиваються в міокарді при ішемії, лежать метаболічні порушення [1, 2, 4-6, 10]. Ці зміни характеризуються прогресуючим зниженням рівня високоенергетичних фосфатів, накопиченням потенційно токсичних продуктів метаболізму, таких як лактат, іони H^+, вільні кисневі радикали, а також накопиченням іонів (натрію і кальцію), що призводить до морфологічного ураження і, зрештою, до загибелі клітини. Лікарські засоби, здатні переривати або зменшувати каскад несприятливих метаболічних реакцій, що викликаються ішемією, та об'єднані назвою «метаболітотропні кардіопротектори», чинять захисну дію на міокард і мають безсумнівні перспективи в клінічній практиці [2, 10, 12, 13, 16]. Проведений співробітниками НПО «Фарматрон» (президент – професор І.А.Мазур) цілеспрямований пошук засобів кардіопротекції в ряду похідних 1,2,4-триазоліл-5-тіокарбонових кислот завершився створенням потенційного препарату «Лізиній» (L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат), який проявляє кардіопротективні, протиішемічні, антиоксидантні і ендотеліопротективні властивості [6, 7].

Метою цієї роботи було вивчення впливу курсового призначення «Лізинію» (2,5% розчин для ін'єкцій) на стан деяких ланок енергетичного метаболізму міокарда в умовах його експериментальної ішемії.

Матеріали та методи

Досліди виконані на 40 щурах лінії Вістар масою 190-210 г, отриманих з розплідника Інституту фармакології і токсикології АМН України. Всі маніпуляції було проведено згідно з положенням про використання тварин у біомедичних дослідах (Страсбург, 1986 р., зі змінами, внесеними в 1998 р.). Інфаркт міокарда (ІМ) моделювали поетапним введенням ізадрину і пітуїтрину за схемою: пітуїтрин – 0,5 Од/кг внутрішньоочеревинно, через 20 хвилин ізадрин – 100 мг/кг підшкірно, через 6 годин ін'єкція ізадрину повторювалась і через 24 години вводились обидва агенти в тих же дозах [3, 9]. У роботі використовувався пітуїтрин для ін'єкцій виробництва

І.А.Мазур – доктор фармац. наук, професор, завідувач кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету, президент НВО «Фарматрон»

Г.В.Георгієвський – канд. фармац. наук, старший науковий співробітник Українського науково-експертного центру якості лікарських засобів (м. Харків)

АВ «Endokrininiai» (Литва) та ізадрин виробництва «Sigma» (USA). Досліджувані препарати вводили внутрішньоочеревинно триразово протягом доби паралельно з формуванням інфаркту за 30 хвилин до ін'єкції пітуїтрину та ізадрину: «Лізиній» в дозі 50 мг/кг, референс-препарат мілдронат – у дозі 100 мг/кг [5]. Всього було чотири групи тварин: 1) інтактні (10 щурів); 2) контрольні – неліковані з ІМ (10 щурів); 3) тварини з ІМ, які отримували «Лізиній» (10 щурів); 4) тварини з ІМ, які отримували референс-препарат мілдронат – стандарт метаболітотропної кардіопротекції (10 щурів).

Тварин виводили з експерименту через 60 хвилин після останньої ін'єкції ізадрину під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг).

Серце швидко виділяли і фіксували в рідкому азоті. Методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифузі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли цитозольну і мітохондріальні фракції. Стан енергетичного обміну (продукція і транспорт енергії) визначали за рівнем найбільш значущих інтермедіатів – АТФ, АДФ, АМФ, лактату, пірувату, малату, ізоцитрату, глікогену, глюкозо-6-фосфату, а також за активністю цитозольної і мітохондріальної креатинофосфокінази (КФК-цт; КФК-мх) [2, 3, 8-10].

Про активність компенсаторного шунта енергопродукції – малат-аспартатного човника робили висновки за активністю малатдегідрогенази (МДГ) і вмістом малату, аспартату і глутамату [8, 10, 11].

Статистичну обробку даних проводили з використанням стандартного пакету аналізу програми статистичної обробки результатів версії Microsoft Office Excel 2003. Дані надані у вигляді вибіркового середнього значення ± стандартна похибка середнього значення. Перевірку на нормальність розподілення здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Достовірність відмінностей між експериментальними групами оцінювали за допомогою U-критерію Уїтні-Манна комп'ютерної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5).

Результати та їх обговорення

Моделювання ІМ призводило до ішемічного порушення енергетичного метаболізму – дефіциту макроергічних фосфатів, виснаження вуглеводних резервів на фоні активації гліколізу, гальмування реакцій циклу Кребса і гальмування компенсаторних шунтів енергії (табл.). Так, у гомогенаті серця тварин з інфарктом міокарда спостерігалось зниження вмісту АТФ на 37,2%, АДФ – на 47%, глікогену – на 81,6%, глюкозо-6-фосфату – на 48,0%. Паралельно реєструвалось збільшення лактату на 152,0% на фоні зниження рівня малату на 65,2%, пірувату – на 35,3% та ізоцитрату – на 37,3%.

Зниження активності мітохондріальної КФК на 46% і цитозольної КФК на 30% свідчило про порушення транспорту енергії.

Призначення 2,5% розчину «Лізинію» тваринам з ІМ приводило до підсилення продукції АТФ на 53,6% за рахунок інтенсифікації аеробних процесів. «Лізиній» чинив помірну дію відносно вмісту субстратів окиснення – глікогену (47%) і глюкозо-6-фосфату (+41%) в ішемізованому міокарді. «Лізиній» обмежував активність малопродуктивного анаеробного гліколізу в умовах ішемії, про що свідчило зниження рівня лактату на 57%. При цьому «Лізиній» нормалізував окиснення в циклі Кребса на дикарбоновій ділянці (підвищення рівня малату на 120%). «Лізиній» також позитивно впливав на окиснювальні процеси на трикарбоновій ділянці циклу Кребса (підвищення рівня ізоцитрату на 60%) і в дихальному ланцюгу (підвищення активності цитохром С-оксидази на 46,7%). Суттєвим моментом у механізмі енерготропної дії «Лізинію» в умовах ішемії міокарда був його активуючий вплив на компенсаторний малат-аспартатний шунт. Малат-аспартатний човник здійснює перенос відновлених еквівалентів, які утворюються в цитоплазмі в процесі гліколізу, в мітохондрії в умовах ішемії. Утворений в цитоплазмі в умовах зниженого вмісту кисню НАДН$^+$ використовується для перетворення щавлевооцтової кислоти на малат, який проникає в мітохондрію і бере участь в експорті α-кетоглутарату. Цей малат у мітохондріях перетворюється на щавлевооцтову кислоту з утворенням НАДН, доступного для електронотранспортного ланцюга (з 2 протонів утворюються 3 молекули АТФ). Утворена з малату щавлевооцтова кислота перетворюється на α-кетоглутарат і аспартат. α-Кетоглутарат йде з мітохондрій в обмін на малат, а аспартат обмінюється на глутамат. Перенос відбувається за рахунок градієнта глутамату і високого внутрішньомітохондріального відношення глутамат/аспартат [4, 5, 6]. Співвідношення НАДН/НАД$^+$ і малат/щавлевооцтова кислота регулюється МДГ. При моделюванні ІМ спостерігалось гальмування малат-аспартатного шунта, що виражалось у зниженні активності МДГ на 55%, зменшенні рівня малату на 65,3%, аспартату на 18,6% і глутамату на 30,3%. «Лізиній» інтенсифікував активність малат-аспартатного шунта, про що свідчило підвищення активності МДГ на 153%, збільшення вмісту малату на 120%, аспартату – на 18% і глутамату – на 35%. «Лізиній» збільшував не тільки продукцію енергії, але

Таблиця

Вплив «Лізинію» і референс-препарату на показники енергетичного обміну і малат-аспартатного шунта при експериментальному інфаркті міокарда (ІМ) *(M ± m)*, n=40

Досліджувані показники	Інтакт	ІМ (контроль)	ІМ + «Лізиній», 50 мг/кг	ІМ + мілдронат, 100 мг/кг
АТФ, мкМ/г тканини	2,82±0.10	1,77±0,11	2,72±0,10* (+53,6%)	2,32±0,12* (+31,0%)
АДФ, мкМ/г тканини	0,610±0,03	0,322±0,02	0,573±0,02* (+78,0%)	0,511±0,03 (+58,7%)
АМФ, мкМ/г тканини	0,12±0,01	0,22±0,01	0,11±0,01* (-50,0%)	0,14±0,01* (-36,4%)
Глікоген, мкМ/г тканини	10,2±0,8	1,87±0,10	2,75±0,5*,** (+47%)	1,65±0,8 (-11,7%)
Глюкозо-6-фосфат, мкМ/г тканини	0,734±0,04	0,381±0,01	0,537±0,02*,** (+41,0%)	0,431±0,02 (+13,1%)
Лактат, мкМ/г тканини	2,56±0,20	6,45±0,11	2,77±0,11*,** (-57,0%)	7,12±0,20 (+10,4%)
Піруват, мкМ/г тканини	0,17±0,03	0,11±0,01	0,15±0,01 (+36,4%)	0,14±0,02 (+27,3%)
Ізоцитрат, мкМ/г тканини	0,686±0,03	0,430±0,01	0,611±0,01* (+42%)	0,511±0,03 (+18,8%)
Малат, мкМ/г тканини	0,72±0,02	0,25±0,01	0,55±0,01*,** (+120%)	0,28±0,02 (+12%)
МДГ, мкМ/мг/хв	6,88±0,11	3,10±0,1	7,87±0,1*,** (+153,8%)	3,87±0,02 (+25%)
Глутамат, мкМ/г тканини	24,4±0,3	17,0±0,2	23,0±0,20*,** (+35,3%)	17,4±0,3 (0%)
Аспартат, мкМ/г тканини	15,0±0,1	12,2±0,1	14,4±0,1 (+18,0%)	11,7±0,1 (0%)
КФК-цт, мкМ/мг/хв	1,147±0,02	0,811±0,01	1,097±0,03* (+35,3%)	0,941±0,02 (+16,0%)
КФК-мх, мкМ/мг/хв	0,771±0,03	0,411±0,02	0,719±0,01* (+75,0%)	0,582±0,07* (+41,6%)
Цитохром-С-оксидаза, мкМ/мг/хв	5,4±0,1	3,2±0,2	4,7±0,1*,** (+46,8%)	3,8±0,1 (+18,7%)
МВ-КФК, мМол/л/год	0,05±0,001	0,19±0,008	0,061±0,001*,** (-68,0%)	0,12±0,003* (-36,8%)

Примітки:
1) * – P<0,05 по відношенню до контрольної групи;
2) ** – P<0,05 по відношенню до групи мілдронату.

і її транспорт, про що свідчило підвищення активності мітохондріальної креатинфосфокінази на 75% (КФК-мх) і цитозольної креатинфосфокінази на 35% (КФК-цт). Призначення мілдронату приводило до збільшення синтезу АТФ за рахунок активації анаеробного гліколізу і більш інтенсивного втягнення субстратів – глікогену і глюкозо-6-фосфату в продукцію макроергів.

Введення мілдронату приводило до збільшення транспорту енергії, про що свідчило підвищення активності мітохондріальної і цитозольної КФК.

При цьому призначення мілдронату, на відміну від застосування «Лізинію», не чинило позитивного впливу на окиснювальну продукцію енергії в циклі Кребса і активацію малат-аспартатного компенсаторного шунта.

Сумарний внесок мілдронату в енергозабезпечення серця в умовах ішемії був нижчим, ніж подібна енерготропна дія «Лізинію». Біохімічними дослідженнями сироватки крові було виявлено зменшення гіперферментемії серцевого ізоензиму креатинфосфокінази (МВ-КФК) на 68% в групі тварин, які отримували «Лізиній», що підтверджувало протиішемічну дію препарату. Мілдронат чинив менш виражену протиішемічну дію зі зниження показників біохімічного маркера МВ-КФК.

ВИСНОВКИ

1. Призначення «Лізинію» (2,5% розчин для ін'єкцій в ампулах) в дозі 50 мг/кг тваринам з експериментальним ін-

фарктом міокарда приводило до підвищення продукції АТФ і АДФ на тлі зниження АМФ в тканинах серця.

2. «Лізиній» обмежує активність малопродуктивного анаеробного гліколізу в умовах ішемії міокарда і паралельно інтенсифікує окиснення в циклі Кребса на дикарбоновій та трикарбоновій ділянці, а також у дихальному ланцюгу.

3. Механізм енерготропної дії «Лізинію» реалізується за рахунок інтенсифікації аеробних реакцій і компенсаторної активації малат-аспартатного шунта, що формує стійкість міокарда до гіпоксії.

4. Застосування «Лізинію» за силою терапевтичного впливу достовірно перевищує ефективність референс-препарату – мілдронату.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Амосова Е.Н. // Укр. кардиол. журн. – 2000. – №4. – С. 86-92.*
2. *Визир В.А., Волошин Н.А., Мазур И.А., Беленичев И.Ф. Метаболические кардиопротекторы. – Запорожье, 2006. – 34 с.*
3. *Воронина Т.А., Серединин С.Б. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – МЗ РФ ЗАО ИИА Ремедиум, 2002. – 320 с.*
4. *Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. Тиотриазолин. – Запорожье, Львов: Наутилус, 2005. – 156 с.*
5. *Мазур И.А., Чекман И.С., Беленичев И.Ф. Метаболитотропные препараты. – Запорожье, 2007. – 309 с.*
6. *Мазур И.А., Волошин Н.А., Визир В.А., Беленичев И.Ф. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии. – Запорожье: Печатный мир, 2011. – 303 с.*
7. *Пат. Российской Федерации № 21370492 C 07 D, A 61 K 31/41 и пат. Украины №86668 МПК 200901 A 61 K 31/4196 № a 200705865 Лизиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиопротективное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное, противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью / И.А.Мазур, И.Ф.Беленичев, Ю.М.Колесник, Л.И.Кучеренко. – Заявл.: 04.06.2007. Опубл.: 20.10.2009.*
8. *Прохорова М.А. Современные методы в биохимии. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. – 368 с.*
9. *Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.*
10. *Тишкин В.С. Клинико-экспериментальное исследование эффективности средств метаболической коррекции в комбинированной терапии инфаркта миокарда: Дис. ... докт. мед. наук. – М., 1989. – 402 с.*
11. *Чекман И.С., Губский Ю.И., Громов Л.А., Беленичев И.Ф. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов: Метод. рекоменд. Государственного фармакологического центра МОЗ Украины. – К., 2010. – 81 с.*
12. *Andersson B., Stromblad S.O., Lomsky M., Waangstein F. // Eur. Heart J. – 2009. – Vol. 20. – P. 575-580.*
13. *Anversa P., Zang X., Olivetti G., Capasso J.M. // Cardiovasc. Res. – 2003. – Vol. 27. – P. 145-157.*
14. *Cardoni A., Pasini E. // Eur. Heart J. – 1999. – Vol. 1. – P. 40-48.*
15. *Guidelihes on management of stable angina pectorals – The Task Force on the European Society of Cardiology // Eur. Heart. J. – 2006. – Vol. 27. – P. 1341-1381.*
16. *Nemoz C., Leizorovicz A., Gillet J. // Arch. Mai. Coeur. Vaiss. – 2005. – Vol. 88, №9. – P. 1261-1266.*

Адреса для листування: 69035, м. Запоріжжя,
пр. Маяковського, 26. Тел. (61) 224-69-25.
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції 06.04.2012 р.