

І. В. Ніженковська¹, І. Й. Сейфулліна², В. П. Нароха¹,
О. Е. Марцинко², О. А. Чебаненко²

Вивчення антиоксидантних властивостей комплексу германію з ніотиновою кислотою (МІГУ-1) за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, м. Одеса

Ключові слова: МІГУ-1, перекисне окиснення ліпідів, ніотинова кислота, серцева недостатність, доксорубіцин

Хвороби серцево-судинної системи є вагомою проблемою сучасної медицини. У структурі захворювань серця та судин провідними є ішемічна хвороба, артеріальна гіпертензія, атеросклероз як системні патологічні процеси, що супроводжуються розвитком інфаркту міокарда та/або серцево-судинної недостатності та цереброваскулярної патології. Значну роль серед причин серцевої недостатності відіграють кардіоміопатії, зумовлені впливом різних токсичних речовин, у тому числі групи антрациклінових антибіотиків – препаратів хіміотерапії, які можуть спричиняти стан оксидантного стресу в цілісному організмі. Насамперед це стосується перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран, надлишкового синтезу активних форм кисню (АФК) і утворення вільних радикалів у кардіоміоцитах [1]. За даними Державної служби статистики у 2014 році смертність в Україні від хвороб системи кровообігу склала близько 67 %, у той час як кількість уперше зареєстрованих випадків хвороб системи кровообігу була менше ніж 7 % [2]. Отже, невіршеними залишаються проблеми профілактики ускладнень та фармакологічної корекції даної групи захворювань.

Натепер проведено численні дослідження механізму дії, фармакокінетики та фармакодинаміки нових координаційних сполук германію з органічними

біолігандами [3], синтезованих вітчизняними вченими. Виявлено виражений вплив комплексу германію з ніотиновою кислотою МІГУ-1 на жирнокислотний спектр ліпідів у тканині міокарда та печінки за умов токсичної дії доксорубіцину (ДОК) [4], кардіотоксичність якого пов'язують з інтенсифікацією реакцій ПОЛ у клітинах. Саме це свідчить про доцільність подальшого дослідження МІГУ-1 за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності (ХСН).

Мета дослідження – вивчити зміни антиоксидантної системи (АОС) у серцевому м'язі щурів з експериментальною ХСН та оцінити ефективність їхньої корекції за допомогою препарату ніотинової кислоти та нової комплексної сполуки германію з ніотиновою кислотою (МІГУ-1).

Матеріали та методи. Дослідження проводили на статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г. Догляд за тваринами здійснювали згідно з Директивою Європейського Союзу 2019/10/63 ЕУ про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [5].

Тварини методом випадкової вибірки були розділені на 4 групи по 10 тварин у кожній: 1) тварини, яким щотижня протягом 5 тижнів внутрішньом'язово (в/м) вводили 0,9 % NaCl (контроль); 2) тварини, яким 5 тижнів вводили в/м ДОК з розрахунку 5 мг/кг/тиждень (експериментальна ХСН) [6]; 3) тварини, які протягом 5 тижнів отримували в/м ДОК на тлі внутрішньоочеревинного (в/о) введення ніотинової кислоти в

дозі 10 мг/кг/день (ХСН + нікотинава кислота); 4) тварини, які протягом 5 тижнів отримували в/м ДОК на тлі в/о введення комплексу МІГУ-1 у дозі 10 мг/кг/день (ХСН + МІГУ-1).

У гомогенаті, отриманому з міокарда експериментальних тварин, визначали інтенсивність генерації супероксидного аніон-радикала (СОР) за накопиченням ХТТ-формазану [7, 8] та концентрацію перекису водню фотоколориметричним методом [9, 10]. Активність ферментів АОС у міокарді – СОД – вимірювали за методом Чеварі та співавт. [11], активність КАТ визначали в реакції з перекисом водню за Корольюк і співавт. [12]. Інтенсивність ПОЛ визначали за накопиченням продуктів окиснення – ДК – спектрофотометричним методом [13], ТВК-АС – за методом Стальної і співавт. [14] і ШО флуориметричним методом [15]. Уміст білка в гомогенаті визначали за методом Лоурі [16].

Отримані результати представлено у вигляді середньоарифметичного (М) і стандартної похибки (m), з урахуванням кількісної вибірки (n). Отримані в експерименті дані обробляли за допомогою U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні [17]. Відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У тварин з експериментальною ХСН спостерігали інтенсивне утворення АФК порівняно з контрольною групою. Так, рівень СОР зріс у 1,80, а перекису водню – у 1,49 рази ($P < 0,05$) (табл. 1). Відмічено також зниження активності ферментів АОС у групі тварин, яким вводили ДОК: СОД – у 1,42 рази і КАТ у 1,64 рази ($P < 0,05$) (табл. 2). Це може бути пов'язано з низькою антиоксидантною активністю тканини міокарда за умов хронічної інтоксикації ДОК.

Підвищення вмісту продуктів ПОЛ – ДК, ТВК-АС та ШО в міокарді тварин з

Таблиця 1

Уміст активних форм кисню в серцевому м'язі шурів (М ± m, n = 10)

Досліджуваний параметр	Супероксидний радикал, мкмоль ХТТ-формазану · мг білка ⁻¹	Перекис водню, мкмоль · мг білка ⁻¹
Група тварин		
Контроль	8,39 ± 0,68	6,72 ± 0,56
Хронічна серцева недостатність	15,17 ± 1,02*	10,03 ± 0,82*
Хронічна серцева недостатність + нікотинава кислота, 10 мг/кг	12,03 ± 1,04*	8,36 ± 0,76
Хронічна серцева недостатність+МІГУ-1, 10 мг/кг	10,63 ± 0,84#	5,66 ± 0,39*/*

Примітка. Тут і в табл.2-3: *вірогідність відносно контролю ($P < 0,05$), # вірогідність відносно групи тварин з експериментальною ХСН ($P < 0,05$).

Таблиця 2

Активність антиоксидантних ферментів у міокарді експериментальних шурів (М ± m, n = 10)

Досліджуваний параметр	Активність супероксиддисмутази, ум. од. · хв ⁻¹ · мг білка ⁻¹	Активність каталази, нмоль · хв ⁻¹ · мг білка ⁻¹
Група тварин		
Контроль	2,15 ± 0,18	4,17 ± 0,35
Хронічна серцева недостатність	1,51 ± 0,11*	2,54 ± 0,23*
Хронічна серцева недостатність + нікотинава кислота, 10 мг/кг	1,77 ± 0,14*	2,96 ± 0,27*
Хронічна серцева недостатність + МІГУ-1, 10 мг/кг	2,03 ± 0,18#	5,43 ± 0,31*/*

експериментальною ХСН (табл. 3) свідчило про розвиток у тварин окислювального стресу. Ці результати узгоджуються з даними літератури щодо активації вільнорадикальних реакцій та процесів ПОЛ у міокарді під впливом ДОК [1].

При введенні ДОК на фоні щоденних ін'єкцій нікотинової кислоти концентрація АФК у міокарді щурів була нижчою, ніж у тварин з ХСН (СОР в 1,26 та перекису водню в 1,2 разу), але все ще не досягала показників контрольної групи (табл. 1). Активність антиоксидантних ферментів достовірно не відрізнялася від показників групи тварин з ХСН (табл. 2). Рівень продуктів ПОЛ дещо знижувався порівняно з показниками контрольної групи (ДК у 1,18, ТБК-АС у 1,17 та ШО у 1,14 разу), але, як і активність ферментів АОС, достовірно не відрізнявся від показників групи тварин з ХСН.

МІГУ-1 за умов експериментальної ХСН у щурів справляв більш виражену дію на про/антиоксидантний гомеостаз: уміст АФК достовірно знизився (СОР в 1,43 разу та перекису водню в 1,77 разу) порівняно з тваринами, яким вводили ДОК. Аналіз показників активності КАТ та рівня перекису водню в кардіоміоцитах тварин 4 групи показав, що збільшення активності КАТ в 2,14 разу порівняно з 2 групою відображалось значним зменшенням умісту перекису водню в тканині міокарда. Рівень активності КАТ та вміст перекису водню відрізнялися від показників контрольної групи в 1,3 разу та в 1,19 разу відповідно. Можливо механізм даного ефекту пов'язаний з прямою фізико-хімічною взаємодією гер-

манію з СОР та перекисом водню [18, 19]. Зберігалася більш виражена, ніж при дії нікотинової кислоти, тенденція до відновлення рівня ДК, ТБК-активних сполук та ШО порівняно з тваринами з експериментальною ХСН, а вміст вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-активних сполук був достовірно нижчим, ніж навіть показники контрольної групи в 1,26 разу, що також можна пояснити прямим антирадикальним впливом комплексу МІГУ-1.

За розвитку в тканинах процесів окислювального стресу відбувається пошкодження ДНК ядерного та/або мітохондріального геному з наступною ініціацією процесів апоптозу клітини [20]. Існують дані, що доводять головну роль мітохондрій в запуску внутрішньоклітинної послідовності біохімічних реакцій, що реалізують зовнішній, рецептор-незалежний шлях апоптозу [21]. Також у серцевому м'язі навіть короткотривалі епізоди ішемії, гіпоксії супроводжуються значною активацією ПОЛ, що, можливо, викликає зміни в'язкості та упорядкованості мембранного бішару, зміну фазових властивостей та електричного опору мембран. [22]. Інтермедіати жирних кислот та продукти ПОЛ деструктивно впливають на мітохондрії, пригнічують активність Na^+/K^+ -АТФази та пригнічують активність Ca -насосу саркоплазматичного ретикулу та транспорт електронів за рахунок інгібування НАДН-КоQ-редуктази. Відомо, що як недоокиснені жирні кислоти, так і продукти їхнього переокиснення можуть стати медіаторами, що викликають злочи́сні порушення серцевого ритму і раптову смерть.

Таблиця 3

Уміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у серці щурів ($M \pm m, n = 10$)

Група тварин	Досліджуваний параметр	Дієнові кон'югати, нмоль · мг білка ⁻¹	ТБК-активні сполуки, нмоль · мг білка ⁻¹	Шиффові основи, ум. од. · мг білка ⁻¹
Контроль		237,61 ± 23,09	81,84 ± 7,43	7,54 ± 0,52
Хронічна серцева недостатність		352,59 ± 29,48	105,16 ± 9,75*	9,49 ± 0,88*
Хронічна серцева недостатність + нікотинова кислота, 10 мг/кг		298,81 ± 26,92	90,11 ± 7,79	8,32 ± 0,71
Хронічна серцева недостатність + МІГУ-1, 10 мг/кг		210,18 ± 18,71	64,73 ± 5,46*/*	7,03 ± 0,59#

Отримані дані дають змогу припустити, що комплекс МІГУ-1 пригнічує оксидативний стрес завдяки прямій антирадикальній дії, знижуючи утворення АФК та попереджаючи пошкодження геному клітин, а також відновлює активність НАДН-КоQ-редуктази, що бере участь у транспорті електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій.

Отримані в експерименті дані, що підтверджують антиоксидантну активність координаційної сполуки МІГУ-1, яка проявляється в нормалізації окисно-відновних процесів у міокарді шляхом інгібування генерації АФК, активації СОД, КАТ, а також пригніченні процесів ПОЛ, є основою для подальшого дослідження механізмів дії МІГУ-1 за умов експериментальної ХСН.

Висновок

1. За умов експериментальної хронічної серцевої недостатності в серцевому м'язі спостерігали зниження активності супероксиддисмутази, каталази та накопичення супероксидного радикала, перекису водню та продуктів перекисного окиснення ліпідів.
2. Уведення протягом 5 тижнів комплексної сполуки германію з нікотиною кислотою (МІГУ-1) у дозі 10 мг/кг тваринам з експериментальною хронічною серцевою недостатністю призводило до відновлення про/антиоксидантного гомеостазу та рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів у міокарді щурів.

1. Lee C. S. Mechanisms of Cardiotoxicity and the Development of Heart Failure / C. S. Lee // Crit Care Nurs Clin North Am. – 2015. – V. 27 (4). – P. 469–81.
2. Державна служба статистики України 2015 [Електроний ресурс] – Режим доступу: <http://www.ukrstat.gov.ua/>.
3. Кресюн В. Й. Фармакологічна характеристика сполук германію / В. Й. Кресюн, К. Ф. Шемонаєва, А. Г. Видавська // Клінічна фармація. – 2004. – № 4. – С. 65–68.
4. Вплив нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиною кислотою (МІГУ-1) на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів та гепатоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю / І. В. Ніженковська, В. П. Нароха, О. В. Кузнецова [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 1 (42). – С. 68–75.
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [Електроний ресурс] – Режим доступу: <http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>.
6. Nizhenkovskaya I. The influence of sufan on myocardial energetic metabolism in the case of adriamycin-induced heart failure / I. Nizhenkovskaya // Current Topics in Pharmacology. – 2013. – V. 17. – P. 103–108.
7. Able A. J. Use of new tetrazolium-based assay to study the production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenged with avirulent zoospores of *Phytophthora parasitica varnicotianae* / A. J. Able, D. I. Guest, M. W. Sutherland // Plant Physiol. – 1998. – V. 177, № 2. – P. 491–499.
8. Sutherland M. W. The tetrazolium dyes MTS and XTT provide new quantitative assays for superoxide and superoxide dismutase / M. W. Sutherland, B. A. Learmonth // Free Radic. Res. – 1997. – V. 27 (3). – P. 283–289.
9. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation / Z. Y. Jiang, A. C. Woollard, S. P. Wolff [et al.] // FEBS Lett. – 1990. – V. 268 (1). – P. 69–71.
10. Nourooz-Zadeh J. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation - Xylenol Orange assay / J. Nourooz-Zadeh, J. Tajaddini-Sarmadi, S. P. Wolff // Anal. Biochem. – 1994. – V. 220. – P. 403–409.
11. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Королюк М. Метод определения активности каталазы / М. Королюк, Л. Иванова, И. Майорова, В. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
13. Гаврилов В. Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Хмара Н. Ф. // Лаб. дело. – 1988. – № 2. – С. 60–63.
14. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – Москва : Медицина, 1977. – С. 66–68.
15. Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / Колесова О. Е., Маркин А. А., Федорова Т. Н. // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.

16. Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193, № 1. – P. 265–275.
17. Петри А. Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин; пер. с англ. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2003. – 143 с.
18. The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress / Y. Liu, L. Y. Hou, Q. M. Li [et al.]. – Environ Technol. – 2015. – V. 14. – P. 1–11.
19. Nakamura T. The Oral Intake of Organic Germanium, Ge-132, Elevates α -Tocopherol Levels in the Plasma and Modulates Hepatic Gene Expression Profiles to Promote Immune Activation in Mice / T. Nakamura, T. Takeda, Y. Tokuji // Int. J. Vitam Nutr Res. – 2014. – V. 84 (3–4). – P. 183–95.
20. Губський Ю. І. Смерть клітки: свободні радикали, некроз, апоптоз: монографія / Ю. І. Губський. – Вінниця : Нова Книга, 2015. – 360 с.
21. Галітовський В. Е. Дослідження ролі мітохондрій в апоптозі в тимоцитах і клітинах культури: автореферат дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Галітовський В. Е. – Пушчино, 2001. – 97 с.
22. Губський Ю. І. Вивчення взаємозв'язків між антиоксидантними та квантово-хімічними характеристиками похідних піридинкарбонових кислот / Губський Ю. І. // Вісник фармації. – 2003. – Т. 33 – № 1. – С. 11–15.

І. В. Ніженковська, І. Й. Сейфулліна, В. П. Нароха, О. Е. Марцинко, О. А. Чебаненко

Вивчення антиоксидантних властивостей комплексу германію з ніотиною кислотою (МІГУ-1) за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності

Мета дослідження – вивчити зміни антиоксидантної системи в серцевому м'язі щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю та оцінити ефективність їхньої корекції за допомогою нової координаційної сполуки германію з ніотиною кислотою (МІГУ-1). Як препарат порівняння застосовано ніотинову кислоту.

Антиоксидантні властивості було досліджено за умов доксорубіцин (ДОК)-індукованої хронічної серцевої недостатності в щурів. Тварини контрольної групи отримували фізіологічний розчин протягом 5 тижнів, експериментальну хронічну серцеву недостатність моделювали введенням доксорубіцину в дозі 5 мг/кг внутрішньом'язово один раз на тиждень протягом 5 тижнів; МІГУ-1 та ніотинову кислоту вводили внутрішньоочередно щоденно в дозі 10 мг/кг протягом 5 тижнів. В експерименті було досліджено концентрації супероксидного аніон-радикала (САР) та перекису водню (ПВ), уміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук та основ Шиффа), а також активність ферментів супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ) у міокарді тварин.

Результати показали, що за умов курсового введення МІГУ-1 у дозі 10 мг/кг на фоні ДОК-індукованої хронічної серцевої недостатності зменшувалися параметри оксидативного стресу (САР, ПВ), збільшувалася активність ферментів антиоксидантного захисту (СОД, КАТ), уміст продуктів ПОЛ досягав рівня контрольної групи. Ніотинова кислота, введена тваринам з експериментальною хронічною серцевою недостатністю, не виявила антиоксидантний ефект у серцевому м'язі.

Отримані результати свідчать про пригнічення вільнорадикальних реакцій у кардіоміоцитах під дією МІГУ-1 за умов хронічної серцевої недостатності в щурів, що дозволяє розглядати МІГУ-1 як препарат з потенційною кардіопротекторною активністю.

Ключові слова: активні форми кисню, перекисне окиснення ліпідів, МІГУ-1, хронічна серцева недостатність, доксорубіцин

И. В. Ниженковская, И. И. Сейфуллина, В. П. Нароха, Е. Э. Марцинко, Е. А. Чебаненко

Изучение антиоксидантных свойств комплекса германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1) в условиях экспериментальной хронической сердечной недостаточности

Цель исследования – изучить изменения антиоксидантной системы в сердечной мышце крыс с экспериментальной хронической сердечной недостаточностью и оценить эффективность их коррекции с помощью нового координационного соединения германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1). В качестве препарата сравнения использовали никотиновую кислоту.

Антиоксидантные свойства были исследованы в условиях доксорубицин (ДОК)-индуцированной хронической сердечной недостаточности у крыс. Животные контрольной группы получали физиологический раствор в течение 5 недель; экспериментальную хроническую сердечную недостаточность моделировали введением ДОК в дозе 5 мг/кг внутримышечно один раз в неделю в течение 5 недель; МИГУ-1 и никотиновую кислоту вводили внутривентриально ежедневно в дозе 10 мг/кг в течение 5 недель. В эксперименте исследовали концентрации супероксидного анион-радикала (САР) и перекиси водорода (ПВ), содержание продуктов перекисного окисления липидов (диено-

вых конъюгатов, ТБК-активных соединений и основания Шиффа), а также активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в миокарде животных.

Результаты показали, что в условиях введения МИГУ-1 в дозе 10 мг/кг на фоне ДОК-индуцированной хронической сердечной недостаточности уменьшались параметры оксидативного стресса (САР, ПВ), увеличивалась активность ферментов антиоксидантной защиты (СОД, КАТ), содержание продуктов ПОЛ достигало уровня контрольной группы. Никотиновая кислота, введенная животным с экспериментальной хронической сердечной недостаточностью, не выявила антиоксидантный эффект в сердечной мышце.

Полученные результаты свидетельствуют об угнетении свободнорадикальных реакций в кардиомиоцитах под действием МИГУ-1 в условиях хронической сердечной недостаточности у крыс, что позволяет рассматривать МИГУ-1 в качестве препарата с потенциальной кардиопротекторной активностью.

Ключевые слова: активные формы кислорода, перекисное окисление липидов, МИГУ-1, хроническая сердечная недостаточность, доxorубин

I. V. Nizhenkovskaya, I. I. Seifullina, V. P. Narokha, O. E. Martsinko, E. A. Chebanenko

Study of antioxidant properties of the complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1) in experimental chronic heart failure

The purpose of this research was to study the changes in the antioxidative system in heart muscle of rats with experimental chronic heart failure and evaluate the effectiveness of its correction by the new complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1). Niacin was used as a reference drug.

The antioxidant effect was investigated in doxorubicin (DXR)-induced chronic heart failure in rats. The control group received normal saline for 5 weeks. Experimental chronic heart failure was induced by administering doxorubicin (5 mg/kg) intramuscularly once a week for 5 weeks; MIGU-1 and niacin were administered intraperitoneally daily (10 mg/kg) for 5 weeks. In this experiment there were studied the levels of superoxide anion radical (SOR), hydrogen peroxide (HP), lipid peroxidation (LPO) products (diene conjugates (DC), thiobarbituric acid active products (TBA-AP) and Schiff bases (SCHB), and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities in the myocardium of animals.

The results indicate that MIGU-1 administration against the DXR background decreases the oxidant parameters (SOR, HP), increases the antioxidant parameters (SOD, CAT), and LPO reaches a normal level. Niacin administration to experimental rats with chronic heart failure has no oxidative protection effect in animal heart.

The results obtained indicate the inhibition of free radical reaction in cardiomyocytes of rats with chronic heart failure and allow to consider MIGU-1 as a product with potential cardioprotective activity.

Key words: reactive oxygen species, lipid peroxidation, MIGU-1, chronic heart failure, doxorubicin

Надійшла: 18 грудня 2015 р.

Контактна особа: Нароха Віолетта Петрівна, асистент, кафедра фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 22, вул. Пушкінська, м. Київ. Тел.: + 38 0 44 234 80 11. Електронна пошта: v.narokha@ukr.net