

16. Казиева, Ж. Н. Устойчивое развитие промышленности (теория и методология) [Текст]: автореф. ... д-ра экон. наук / Ж. Н. Казиева. – Махачкала, 2009. – 47 с.
17. Національна політика щодо забезпечення лікарськими засобами на період до 2025 року [Текст]: проект. – Кабінет Міністрів України, 2016. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/Pro_20161117_2.html
18. Посилкіна, О. В. Діагностика сталого соціально-економічного розвитку фармацевтичних підприємств [Текст] / О. В. Посилкіна, Ю. С. Братішко, К. С. Світлична // Управління, економіка та забезпечення якості в фармацевції. – 2015. – № 3 (41). – С. 44–50.

Дата надходження рукопису 25.01.2017

Мороз Світлана Григорівна, кандидат економічних наук, доцент, кафедра організації та економіки фармацевції, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: m.sg@ukr.net

Сагайдак-Нікітюк Ріта Василівна, доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра процесів та апаратів хіміко-фармацевтичних виробництв, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: sagaidak_rita@ukr.net

Зойде Діана Романівна, кандидат економічних наук, доцент, кафедра менеджменту і адміністрування, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: 270214@ukr.net

УДК 615.2:547.571'292:616.831-00
DOI: 10.15587/2519-4852.2017.98164

АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ ТА ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ ПРИ ГОСТРІЙ ТА ХРОНІЧНІЙ ГІПОКСІЇ НА ФОНІ ВВЕДЕННЯ ПОХІДНОГО 2-БЕНЗАМІДО-2-(2-ОКСОІНДОЛІН-3-ІЛІДЕН) ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

© **І. І. Заморський, Ю. С. Букатару, С. П. Мельничук**

Мета. Вивчити вплив похідного 2-бензамідо-2(2-оксоіндолін-3-іліден) оцтової кислоти ZNM на активність сукцинатдегідрогенази та лактатдегідрогенази біохімічних маркерів енергетичного обміну та гіпоксії в головному мозку щурів за умов гострих гіпобаричної гіпоксії (ГГГ) та нормобаричної гіперкапічної гіпоксії (НГГ), хронічної гіпобаричної гіпоксії (ХГГ).

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 80 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–200 г. ГГГ моделювали в проточній барокамері шляхом імітації підйому щурів на «висоту» 12000 м. На «висотному плато» щурів витримували до моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали «спуск» на попередню нульову висоту.

НГГ відтворювали шляхом вміщенням щурів до герметичної камери об'ємом 1000 мл та оцінювали тривалість перебування щурів в закритій камері з моменту закриття контейнеру до другого агонального вдиху.

ХГГ моделювали в проточній барокамері шляхом імітації підйому щурів на висоту 4000 м над рівнем моря. На цій «висоті» тварин утримували впродовж 2-х год щоденно протягом 4-х тижнів, сеанси гіпоксії здійснювалися в ранішні години доби.

Речовини, що досліджували, вводили внутрішньоочередно за 35 хв. до моделювання гіпоксії. Досліджувану речовину ZNM вводили в дозі 15 мг/кг у вигляді водної суспензії, стабілізованої полісорбатом 80. Референс-препарат антигіпоксанти мексидол вводили в дозі 100 мг/кг. Інтактним тваринам вводили еквівалентну кількість води для ін'єкцій з полісорбатом 80. Групам тварин, яким моделювали ХГГ, препарати вводили, починаючи з 14 доби моделювання гіпоксії.

Результати. Активність сукцинатдегідрогенази, при введенні речовини ZNM, в залежності від типу гіпоксії достовірно зростала у групі ГГГ в 2,6 рази, а в групі НГГ – в 1,6 раз в порівнянні з групами модельних патологій. А при введенні мексидолу показники активності зростали у групі ГГГ в 2,9 рази, НГГ – в 1,7 раз, ХГГ – в 1,3 раз.

У той же час активність лактатдегідрогенази при введенні речовини ZNM та мексидолу знижувалася у групі ГГГ в 1,5 раз, НГГ – в 1,3 раз (в 1,5 раз при введенні мексидолу). За умов ХГГ активність лактатдегідрогенази після введення мексидолу не змінювалася, а після введення речовини ZNM незначно, але статистично вірогідно знижувалася на 7,5% у порівнянні з показниками модельної патології.

Висновки. Речовина ZNM та референс-препарат мексидолу нормалізують активності сукцинатдегідрогенази та лактатдегідрогенази, що свідчить про покращення стану енергетичного обміну клітин при гострій і хронічній гіпоксії

Ключові слова: антигіпоксанти, сукцинатдегідрогеназа, лактатдегідрогеназа, гіпоксія, похідні 2-бензамідо-2(2-оксоіндолін-3-іліден) оцтової кислоти, мексидол

1. Вступ

На сьогоднішній день гіпоксія – один із найпоширеніших патологічних чинників, що спричиняє широкий спектр функціонально-метаболических порушень, тому пошук високоефективних способів фармакотерапії гіпоксії залишається актуальним. Специфічними фармакологічними засобами для захисту від гіпоксії є антигіпоксанти – препарати, що сприяють поліпшенню утилізації організмом кисню і зниження потреби в ньому органів і тканин та підвищують стійкість організму до гіпоксії. Накопичений клінічний і експериментальний досвід свідчить, що антигіпоксанти є високоефективними в складі комбінованої терапії при різних захворюваннях, що супроводжуються станами гіпоксії та ішемії. Якщо окреслити коло основних показань до застосування антигіпоксантів, то можна виділити такі значимі напрямки їх використання, як нейропротекція, кардіопротекція, гепатопротекція, гастропротекція, ангіопротекція [1]. Водночас кількість ефективних антигіпоксантів, що впроваджені в клінічну практику, залишається обмеженою, тому пошук нових ефективних і безпечних препаратів з антигіпоксантаю дією є актуальним завданням фармакології.

2. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок із важливими науковими чи практичними питаннями

Як відомо, гіпоксичні стани ускладнюють перебіг багатьох захворювань різного генезу, будучи найважливішою складовою найрізноманітніших патологічних станів. Всебічне вивчення процесів, що перебігають в умовах недостатності кисню, продовжує залишатися актуальним. Недостатність споживання організмом кисню може виникнути в результаті різних причин, зокрема розладів зовнішнього дихання та транспортної функції крові, порушення системного, регіонарного кровообігу і мікроциркуляції, ендотоксемії [2, 3]. Порушення метаболізму – одне з найбільш характерних проявів гіпоксії. Важливими ферментами-маркерами, що використовують для оцінки енергетичного обміну та перебігу гіпоксії є рівень активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ) [4].

Сукцинатдегідрогеназа – один із найважливіших ферментів енергетичного обміну. Це флавопротеїд, у молекулі якого в якості коферменту знаходиться ковалентно зв'язаний флавінаденіндинуклеотид. Цей кофермент діє як акцептор H_2 , каталізує дегідрування сукцинату з утворенням fumarату, тобто, в значній мірі визначає швидкість споживання кисню і утворення АТФ в дихальному ланцюзі. Виконує компенсаторну функцію в енергозабезпеченні клітин у разі порушення NAD-залежного дихання. Зниження його активності свідчить про порушення енергетичної функції мітохондрій в нейронах [4, 5].

Лактатдегідрогеназа – фермент гліколізу, що бере участь в початкових етапах енергоутворення, каталізує реакцію взаємоперетворення пірувату в лактат, що супроводжується зміною $NAD \cdot H$ і NAD^+ . Каталізує оборотну реакцію окислення L-лактату в піруват. Якщо піруват займає ключове положення в вуглеводному обміні, то роль лактату не настільки

велика і він служить лише тимчасовим акцептором електронів або окислювачем в умовах недостатнього постачання тканин киснем. Звідси, важлива функція ЛДГ – це не відновлення пірувату або окислення лактату, а регуляція співвідношення кількості NAD^+ і $NAD \cdot H$, оскільки саме воно впливає на швидкість багатьох каталітичних реакцій [5]. Підвищення активності ЛДГ свідчить про активацію анаеробного гліколізу, що спостерігається при порушенні аеробного гліколізу. У процесі гіпоксії більшість біохімічних реакцій йдуть за анаеробним типом метаболізму, що зумовлює зростання ЛДГ [5]. Тому пошук нових антигіпоксантів, які б впливали на енергетичний обмін, є однією з актуальних проблем сучасної фармакології.

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор

У Національному фармацевтичному університеті в межах наукової програми створення нових синтетичних субстанцій синтезовано низку оригінальних похідних 2-(бензоіламіно)(1-R-2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти з метою виявлення ефективних сполук із антигіпоксантаю активністю. За результатами комп'ютерного прогнозування (PASS), від деяких з них можна очікувати високу антигіпоксантаю активність, що зумовлює доцільність експериментального вивчення цих сполук з метою обґрунтування можливості створення на їх основі лікарських засобів з антигіпоксантаю дією [6].

У проведених скринінгових дослідженнях похідних 2-бензамідо-2(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти доведено антигіпоксантаю активність для деяких сполук за умов гострої гіпобаричної гіпоксії, при цьому найвиразніший антигіпоксантаю ефект спостерігався при застосуванні сполуки № 15 під умовним позначенням ZNM [7].

4. Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття

Залишаються невідомими можливі біохімічні механізми антигіпоксантаю та нейропротекторної активності похідних 2-бензамідо-2(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти, зокрема за умов гіпоксії різного генезу.

5. Формулювання цілей (завдання) статті

Метою дослідження стало вивчення впливу похідного 2-бензамідо-2(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти ZNM на активність ключових ферментів-маркерів енергетичного балансу нейронів (СДГ та ЛДГ) [4] за умов гострих гіпобаричної гіпоксії (ГГГ) та нормобаричної гіперкапічної гіпоксії (НГГ), хронічної гіпобаричної гіпоксії (ХГГ).

6. Виклад основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів

Дослідження проведені на 80 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–200 г, розділених на 10 груп (n=8): інтактні тварини, групи модельної патології – ГГГ, НГГ, ХГГ; групи тварин, яким вводили досліджувану речовину ZNM та моде-

лювали ГГГ та НГГ, ХГГ; групи тварин, яким вводили препарат порівняння мексидол та моделювали ГГГ та НГГ, ХГГ [8, 9].

Речовини, що досліджували, вводили внутрішньоочередно за 35 хв. до моделювання гіпоксії. Досліджувану речовину ZNM вводили в дозі 15 мг/кг у вигляді водної суспензії, стабілізованої полісорбатом 80 [7, 8]. Препарат порівняння мексидол вводили в дозі 100 мг/кг [8]. Інтактним тваринам вводили еквівалентну кількість розчинника (води для ін'єкцій з полісорбатом 80). Групам тварин, яким моделювали ХГГ препарати вводили починаючи з 14 доби моделювання гіпоксії за 35 хв. до початку сеансу.

Тварин утримували в стандартних умовах віварію при постійній температурі та вологості повітря з вільним доступом до води та їжі. Моделювання гіпоксії та виведення тварин з експерименту проводили згідно Директиви Європейського союзу 2010/63/EU про захист тварин, що використовуються у наукових цілях.

ГГГ моделювали в проточній барокамері шляхом імітації підйому щурів на «висоту» 12000 м. «Підйом» і «спуск» тварин здійснювали зі швидкістю 50 м/с. На «висотному плато» щурів витримували до моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали «спуск» на попередню нульову висоту [9].

НГГ відтворювали шляхом вміщенням щурів до герметичної камери об'ємом 1000 мл та оцінювали тривалість перебування щурів в закритій камері з

моменту закриття контейнеру до другого агонального вдиху [9].

ХГГ моделювали в проточній барокамері шляхом імітації підйому щурів на висоту 4000 м над рівнем моря (463 mm Hg) (парціальний тиск кисню pO_2 в атмосферному повітрі на такій висоті – 97 мм рт. ст.). Швидкість підйому складала 24 км/год, що відповідає швидкості зміни барометричного тиску 0,5 мм рт. ст. за секунду. На «висоті» тварин утримували впродовж 2-х год щоденно протягом 4-х тижнів, сеанси гіпоксії здійснювали з 8 до 10 години ранку [10].

Активність СДГ у гомогенатах головного мозку досліджували за реакцією відновлення ферицианіду калію, кількість якого пропорційна активності ферменту [11].

Активність загальної ЛДГ визначали шляхом перетворення пірвату в лактат з одночасним окисленням НАДН в НАД. Зменшення поглинання НАДН прямопропорційно активності ЛДГ у дослідній пробі [11].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistics 17.0 та Microsoft Excel 2013. Достовірність різниці між показниками оцінювали з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента (при нормальному розподілі даних) та непараметричного U-критерію Манна-Уїтні (при невідповідності нормальному розподілу). Критичний рівень статистичної значущості був прийнятий за $p \leq 0,05$.

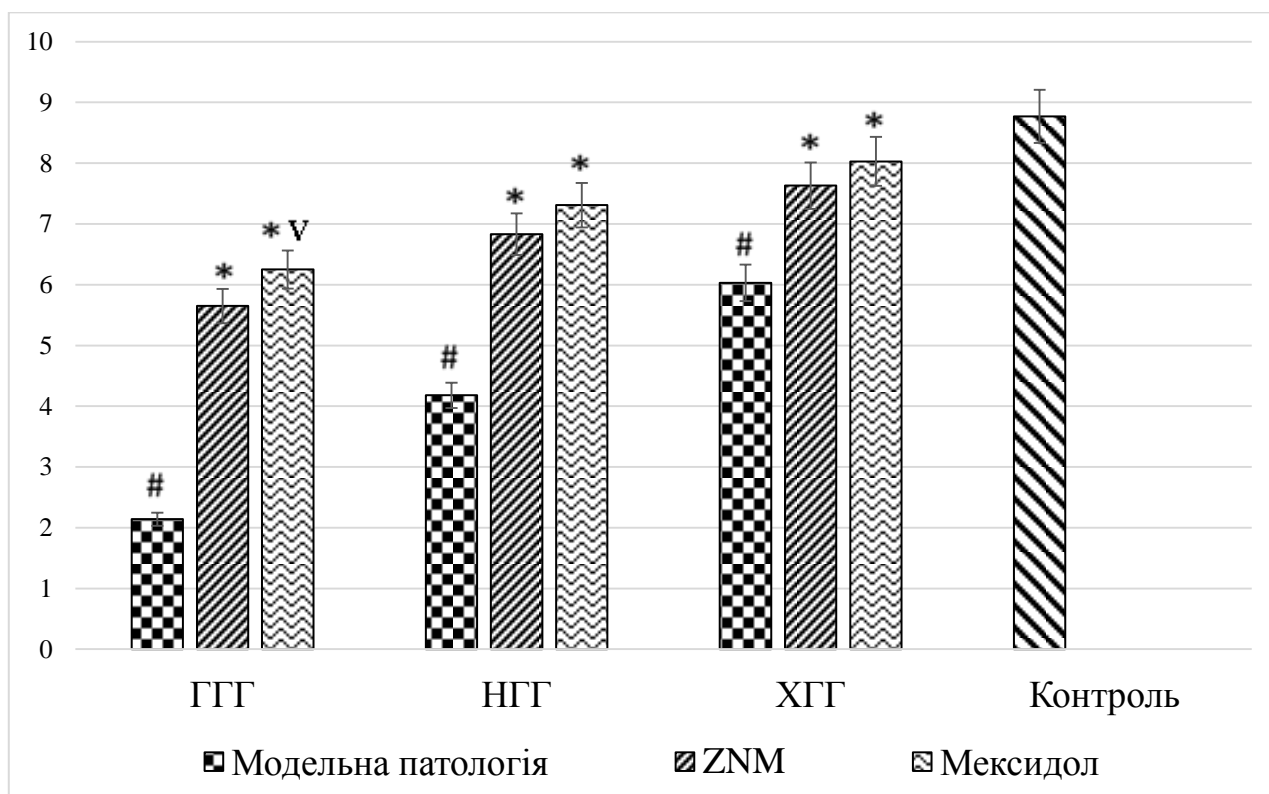


Рис. 1. Вплив похідного ZNM та мексидолу на активність сукцинатдегідрогенази в головному мозку щурів за умов гіпоксії різного генезу, нмоль сукцинату/(хв×мг білка): статистично значущі відмінності з даними групи: # – контролю ($p < 0,05$); * – модельної патології ($p < 0,05$); V – введення мексидолу ($p < 0,05$)

В результаті досліджень було виявлено, що в групах гіпоксії різного генезу (ГГГ, НГГ, ХГГ) активність СДГ знижувалась (рис. 1), а ЛДГ – підвищува-

лась (рис. 2). Підвищення активності ЛДГ при недостатньому функціонуванні СДГ, є компенсаторним механізмом, завдяки якому клітини намагаються ві-

дшкодувати зменшення кількості енергії, що виникає внаслідок пригнічення роботи циклу трикарбонових кислот.

Активність СДГ, при введенні речовини ZNM, в залежності від типу гіпоксії достовірно зростала у групі ГГГ в 2,6 рази, а в групі НГГ – в 1,6 раз в порівнянні з групами модельних патологій. А при вве-

денні мексидолу показники активності зростали у групі ГГГ в 2,9 рази, НГГ – в 1,7 раз, ХГГ – в 1,3 раз. Це свідчить про відновлення енергетичної функції нейронів. Такі дані вказують, що речовина ZNM при моделях гострої гіпоксії нормалізує активність СДГ аналогічно дії мексидолу, а при хронічній гіпоксії поступається останньому.

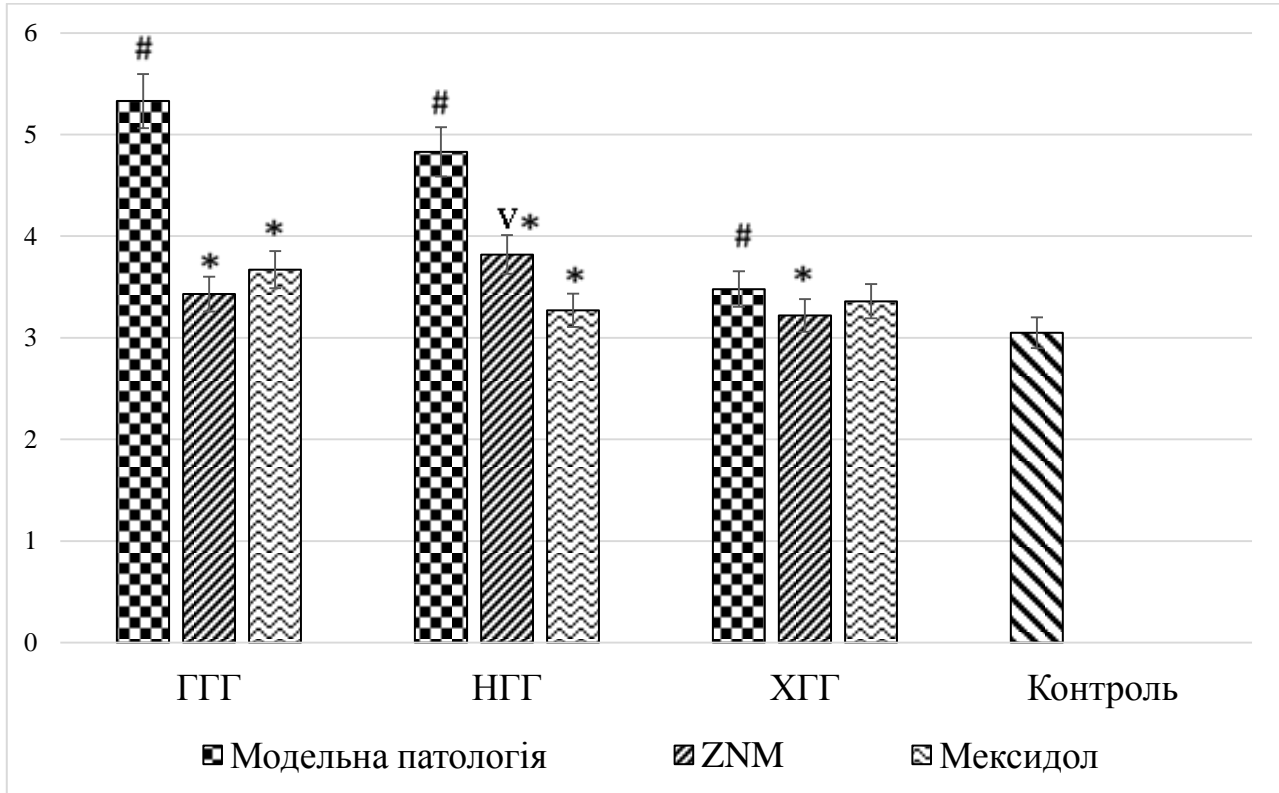


Рис. 2. Вплив похідного ZNM та мексидолу на активність лактатдегідрогенази в головному мозку щурів за умов гіпоксії різного генезу, Од/г тканини: Статистично значущі відмінності з даними групи:

– контролю ($p < 0,05$), * – модельної патології ($p < 0,05$); V – введення мексидолу ($p < 0,05$)

У той же час активність ЛДГ при введенні речовини ZNM та мексидолу знижувалася у групі ГГГ в 1,5 раз, НГГ – в 1,3 раз (в 1,5 раз при введенні мексидолу). За умов ХГГ активність ЛДГ після введення мексидолу не змінювалась, а після введення речовини ZNM незначно, але статистично вірогідно знижувалася на 7,5% у порівнянні з показниками модельної патології.

Отже, у групі ХГГ досліджені показники менше відрізнялись, ніж при дії гострої гіпоксії від показників групи контролю через розвиток процесів адаптації, імовірного зменшення інтенсивності анаеробного гліколізу та відновлення активності аеробного, які почали відбуватися під час експерименту.

Дослідження активності ЛДГ та СДГ в головному мозку щурів показало напруження компенсації процесів окислювального фосфорилування й перекисного окислення під час гіпоксії різного генезу. Застосування речовини ZNM та референс-препарату мексидолу відзначалося нормалізацією активності СДГ та ЛДГ, що свідчить про покращення компенсаторно-приспосувальних механізмів енергетичного гомеостазу та про відновлення стану енергетичного

обміну клітин та тканин. При цьому речовина ZNM діє аналогічно препарату порівняння та у цілому не поступається дії відомого антигіпоксанта мексидолу.

7. Висновки з проведеного дослідження і перспективи подальшого розвитку даного напрямку

Застосування речовини ZNM покращує стан енергетичного обміну як при гострих гіпобаричній і нормобаричній гіперкапічній гіпоксії, так і при хронічній гіпобаричній гіпоксії, підвищуючи активність СДГ та знижуючи активність ЛДГ. Проте при гострій гіпобаричній гіпоксії референс-препарат мексидол вираженіше підвищує активність СДГ в порівнянні з речовиною ZNM. При цьому речовина ZNM викликає вірогідне зниження активності ЛДГ за умов хронічної гіпобаричної гіпоксії, хоча мексидол не дає такого ефекту. У цілому, ефекти речовини ZNM не поступаються ефектам референс-препарату мексидолу.

Отримані результати дають підстави для подальшого клінічного дослідження похідного 2-бензамідо-2(2-оксоіндолін-3-іліден) оцтової кислоти ZNM з метою можливого клінічного впровадження нового антигіпоксанта.

Література

1. Усенко, Л. В. Современные возможности энергопротекции при критических состояниях [Текст] / Л. В. Усенко, А. В. Царев // Медицина неотложных состояний. – 2016. – № 4 (75). – С. 72–78. doi: 10.22141/2224-0586.4.75.2016.75820
2. Новиков, В. Е. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия [Текст] / В. Е. Новиков, О. С. Левченкова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 5. – С. 37–47.
3. Левченкова, О. С. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов [Текст] / О. С. Левченкова, В. Е. Новиков, Е. В. Пожилова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 3–12.
4. Рукав, Т. А. Активность некоторых ферментов в нейронах фронтальной коры головного мозга крыс в ранний постшемический период [Текст] / Т. А. Рукав, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Вестник ВГМУ. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 50–54.
5. Цубанова, Н. А. Вплив спіроциклічного похідного оксіндолу на показники церебрального енергетичного обміну в умовах гіпоксичної та негіпоксичної патології [Текст] / Н. А. Цубанова, С. Ю. Штриголь, Т. В. Горбач // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 51–54.
6. Колісник, С. В. Зв'язок "структура-антигіпоксична активність" у ряду похідних 2-бензамідо-2-(2-оксоіндолініліден-3)-оцтової кислоти [Текст] / С. В. Колісник, Н. П. Кононенко, Д. В. Гаман, О. М. Котенко // Вісник фармації. – 2011. – № 4. – С. 64–66.
7. Zamorskii, I. I. Screening of derivatives of 2-(benzoylamino)(1-r-2-oxoindolin-3-ylidene)acetic acid under the conditions of acute hypobaric hypoxia [Text] / I. I. Zamorskii, Y. S. Bukataru, E. L. Lenga, S. V. Kolisnyk, O. O. Altukhov // News of pharmacy. – 2016. – Vol. 1. – P. 67–70.
8. Важнича, О. М. Антистрессорна активність мексидолу і роль структурних компонентів препарату в її реалізації [Текст] / О. М. Важнича // Клінічна фармація. – 2001. – Т. 5, № 2. – С. 60–63.
9. Пошук і експериментальне вивчення потенційних протигіпоксичних засобів [Текст]: метод. рек. – К.: Міністерство охорони здоров'я. Державний фармакологічний центр, 2002. – 27 с.
10. Пасевич, С. П. Антиоксидантний потенціал похідних 3-оксипіридину за умов хронічної гіпоксичної гіпоксії [Текст] / С. П. Пасевич, І. І. Заморський // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 5. – С. 9–12.
11. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике [Текст] / В. С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.

Дата надходження рукопису 02.03.2017

Заморський Ігор Іванович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 58002
E-mail: zamorskii@mail.ru

Букатару Юліана Сергіївна, кафедра фармакології, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 58002
E-mail: yuliana.bukataru@mail.ru

Мельничук Світлана Петрівна, кандидат медичних наук, кафедра фармакології, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 58002
E-mail: svetlana-pasevich@yandex.ru