



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **109587** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A61K 38/00
G01N 33/49 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2016 02510	(72) Винахідник(и): Горчакова Надія Олександрівна (UA), Ракетська Олена Олександрівна (UA), Чекман Іван Сергійович (UA)
(22) Дата подання заявки:	15.03.2016	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.08.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.08.2016, Бюл.№ 16	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ ЯКТОНУ ТА МЕКСИКОРУ НА ПОКАЗНИКИ ГЛІКОЛІЗУ І ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗУ ТА ЕНЕРГОПРОДУКУЮЧОЇ ФУНКЦІЇ МІТОХОНДРІЙ В МІОКАРДІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДОКСОРУБІЦИНОВОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

(57) Реферат:

Спосіб визначення впливу яктону та мексикору на показники гліколізу і глюконеогенезу та енергопродукуючої функції мітохондрій в міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії включає дослідження біологічних тканин. Викликають доксорубіцинову кардіоміопатію внутрішньочеревним введенням доксорубіцину протягом 4 тижнів в дозі 5 мг/кг 1 раз на добу, за годину до введення доксорубіцину вводять яктон в дозі 357 мг/кг протягом 4 тижнів, мексикор - в дозі 30 мг/кг, біохімічні дослідження проводять на 20-й день. Стан енергетичного обміну визначають за рівнем лактату, пірувату і малату у безбілковому екстракті гомогенату серця. Отримані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають вплив яктону та мексикору на показники гліколізу і глюконеогенезу та енергопродукуючої функції мітохондрій в міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії.

UA 109587 U

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, точніше до фармакології, і може бути використана для визначення впливу яктону та мексикору на показники гліколізу і глюконеогенезу та енергопродукуючої функції мітохондрій в міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії.

Антрациклінові антибіотики залишаються базисними препаратами в лікуванні багатьох злоякісних новоутворень, включаючи лімфоми, лейкози, і саркоми, широко призначаються на ранніх та пізніх стадіях раку молочної залози (3). Разом з тим при застосуванні цих препаратів розвивається антрациклін асоційоване пошкодження серця внаслідок вивільнення тропоніну-1, що веде до серцевої недостатності (1). Проявам кардіотоксичності можуть запобігати нікотинамід та тіотриазолін (5). Стверджено, що для зменшення кардіотоксичності антрациклінів можна застосовувати івабрадин (1). В зв'язку з тим, що механізм розвитку кардіотоксичності антрациклінів пов'язаний з впливом на різні показники обміну речовин та структури кардіоміоциту, пошук кардіопротекторів продовжується. Для запобігання проявів кардіотоксичності фторинних сполук, в тому числі фтору. Попередніми дослідженнями встановлено що похідне янтарної кислоти - яктон, що має антиоксидантні та енерготропні властивості [6], знижує токсичність доксорубіцину в експериментах на мишах та запобігає розвитку доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів за показниками кардіо- та системної гемодинаміки [7].

Відомі кардіопротекторні властивості і у іншого похідного янтарної кислоти - мексикору [8]. Тому метою дослідження стало порівняння впливу яктону і мексикору на показники гліколізу і глюконеогенезу та енергопродукуючої функції мітохондрій в міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії.

Найбільш близьким за технічною суттю до способу, що заявляється, є спосіб фармакологічної детоксикації, який дозволяє безпосередньо діяти на токсичну речовину або її рецептори і лікувати ряд токсичних ефектів (11).

Задача, яку вирішує спосіб, що заявляється - встановити порівняльний вплив сукциновмісних сполук яктону та мексикору на показники гліколізу, глюконеогенезу та енергопродукуючу функцію мітохондрій.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження біологічних тканин, згідно з корисною моделлю, викликають доксорубіцинову кардіоміопатію внутрішньочеревним введенням доксорубіцину протягом 4 тижнів в дозі 5 мг/кг 1 раз на добу, за годину до введення доксорубіцину вводять яктон в дозі 357 мг/кг протягом 4 тижнів, мексикор - в дозі 30 мг/кг, біохімічні дослідження проводять на 20-й день, стан енергетичного обміну визначають за рівнем лактату, пірувату і малату у безбілковому екстракті гомогенату серця, отримані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають вплив яктону та мексикору на показники гліколізу і глюконеогенезу та енергопродукуючої функції мітохондрій в міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Експерименти виконані на щурах лінії Вістар масою 180-200 г. Утримання тварин і проведення досліджень проводили, згідно з Методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Тканини серця щурів гомогенізували в сольовому ізотонічному середовищі (0,15 М KCl) при температурі +4 °C за допомогою скляного гомогенізатору в співвідношенні тканина-сольовий розчин 1:40. Безбілковий екстракт отримували додаванням гомогенатів серця до хлорної кислоти (0,6 М) з подальшою нейтралізацією (5,0 М) калію карбонатом. Вміст малату визначали за зменшенням НАД Н при 340 нм, а лактату за збільшенням НАД Н при 340 нм за методом Хоркоста. Рівень пірувату за методом Цоха-Ломпрехта та ізоцитрату за методом Зіберта ідентифікували за зменшенням НАД Н при 340 нм. Рівень глікогену та глюкозо-6-фосфату визначали фотометричним методом, а активність НАД-залежної малатдегідрогенази - спектрофотометричним методом в мітохондріальній фракції. Мітохондріальну фракцію виділяли методом диференційного центрифугування на рефрижираторній центрифугі Sigma (Німеччина) в 10-разовому об'ємі середовища (6,9,12). Доксорубіцинову кардіоміопатію викликали внутрішньочеревним введенням доксорубіцину протягом 4 тижнів в дозі 5 мг/кг 1 раз на добу (4). Яктон вводили в дозі 357 мг/кг протягом 4 тижнів за 1 годину до введення доксорубіцину(8), мексикор - в дозі 30 мг/кг (2). Вірогідність результатів оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента, застосовуючи стандартний пакет програм статистичного оцінювання результатів версії Microsoft Office Excel, 2003.

Розвиток доксорубіцинової кардіоміопатії супроводжується порушеннями показників системи гліколізу: вміст пірувату знижується на 44 %, ізоцитрату на 38 %, малату на 47 %, що висвітлює зменшення продукції енергії в міокарді щурів при даній патології. Крім цього, падіння

вмісту малату свідчить про порушення процесів окиснення на дикарбоновій ділянці в циклі Кребсу, а рівня ізоцитрату - про порушення процесів окиснення на 3-карбоновій ділянці циклу Кребсу. Пониження активності НАД-залежної малатдегідрогенази на 31 % може також пояснити пригнічення активності малатаспартатного шунта, що супроводжує патологічні процеси в кардіоміоцитах (ішемію, гіпоксію, кардіоміопатію). Разом з пригніченням енергопродукуючої ролі гліколізу зростає вміст лактату на 67 %, що стверджує розвиток ацидозу на фоні доксорубіцинової кардіоміопатії. При даній патології також порушуються процеси глюконеогенезу та глікогенолізу, що доведені падінням вмісту глікогену в 4,7 рази та глюкозо-6-фосфату в 2,1 рази в кардіоміоцитах (таблиця). Отримані дані підтверджують відомості літератури щодо порушення процесів енергозабезпечення скоротливої функції міокарда при доксорубіциновій кардіоміопатії (10). Разом з тим, результати досліджень стверджують, що при доксорубіциновій кардіоміопатії порушуються всі шляхи продукції енергії. Яктон та мексикор, що вводять разом з доксорубіцином, запобігають змінам вмісту пірувату, ізоцитрату, малату, що пояснює їх нормалізуючий вплив на процеси гліколізу.

Таблиця

Вплив яктону та мексикору на показники гліколізу, глюконеогенезу, енергетичного забезпечення мітохондрій в міокарді щурів при доксорубіциновій кардіоміопатії.

Досліджувані показники	Інтактні тварини	Доксорубіцинова кардіоміопатія	Яктон+доксорубіцинова кардіоміопатія	Мексикор+доксорубіцинова кардіоміопатія
Піруват мкм/г	0,16±0,03	0,09±0,005*	0,14±0,05**	0,13±0,04**
Ізоцитрат мкм/г	0,61±0,04	0,38±0,02*	0,53±0,04**	0,55±0,06**
Малат мкм/г	0,77±0,023	0,41±0,01*	0,65±0,03**	0,64±0,02**
Лактат мкм/г	2,58±0,21	7,7±0,1*	3,6±0,01**	3,5±0,02**
Активність малатдегідрогенази мкм/г/хв	7,9±0,07	5,5±0,03*	6,4±0,02**	6,6±0,05**
Глюкоза-6-фосфат мкм/г	0,85±0,05	0,4±0,04*	0,7±0,03**	0,69±0,04**
Глікоген мг/г	10,2±0,8	2,2±0,02*	4,1±0,01**	4,2±0,03**

Примітка: * P<0,05 порівняно з інтактними тваринами;

** P<0,05 порівняно з тваринами при доксорубіциновій кардіоміопатії.

Субстрактна роль бурштинової кислоти пояснює вплив сукциновмісних сполук на компоненти циклу Кребсу та малатаспартатний шунт, що стверджено нормалізацією при введенні сукциновмісних сполук рівню малату, ізоцитрату та активності малатдегідрогенази. Пониження вмісту лактату висвітлює пригнічення ацидозу, який може супроводжувати доксорубіцинову кардіоміопатію. Тобто, сукциновмісні засоби - яктон і мексикор, які вводять разом з доксорубіцином запобігають змінам показників метаболізму кардіоміоцитів (гліколізу, глюконеогенезу, глікогенолізу, активності малатаспартатного шунта) і таким чином попереджають розвиток кардіотоксичності антрациклінових антибіотиків.

В міокарді щурів при доксорубіциновій кардіоміопатії знижується вміст пірувату, ізоцитрату, малату, глікогену, глюкозо-6-фосфату, активність малатдегідрогенази та підвищується рівень лактату, що свідчить про порушення процесів гліколізу, глюконеогенезу, глікогенолізу, енергетичної функції мітохондрій.

Сукциновмісні сполуки - яктон і мексикор, при сумісному введенні з доксорубіцином запобігають порушення в кардіоміоцитах показників гліколізу, глюконеогенезу, глікогенолізу, циклу Кребса, активності малатаспартатного шунта, тобто маркерів кардіотоксичності антрациклінів.

На базі інституту проблем патології і кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця був апробований спосіб, що заявляється, отримані позитивні результати дозволяють рекомендувати його для широкого впровадження в клінічну медицину.

Джерела інформації:

1. Васюк Ю.А. Антрациклиновая кардиотоксичность: перспективы использования ивабрадина //Кардиосоматика. - 2012. - Т. 4, № 3. - С. 65-69.
2. Коровкин М.В. Возможности фармацевтической коррекции эндотелиальной дисфункции и коронарного кровотока с помощью милдроната и мексикора //Научные ведомости Белгородского государственного университета. - 2012. - Т. 4. - С. 275-279.
3. Пивнюк В.М. Терапия пациентов со злокачественными лимфомами с использованием липосомальной формы доксорубина: результаты 15-летнего наблюдения //Онкология. - 2013. - Т. 15, № 2. - С. 136-140.
4. Чекман І.С. Нікотинамід /І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, О.О. Нагорна, Т.Ю. Небесна. - К.: Поліграфплюс, 2008. - 112 с.
5. Чекман І.С. Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио-органопротекции. - К.: Полиграфплюс, 2009. - 155 с.
6. Чекман І.С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов. Метод, рекомендации. - К., 2010. - 80 с.
- 7.Чекман І.С. Вплив яктону на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, енергетичного обміну та протеїнсинтезу при фторидній інтоксикації // Науковий вісник НМУ імені О.О. Богомольця.- 2011. - № 1.- С. 49-54.
8. Яковлева І.Ю. Нейропротективна дія яктону /І.Ю. Яковлева, І.Ф. Беленічев //Вісник проблем біології і медицини. - 2009. - № 1. - С. 145-150.
9. Belenichev I.F. Malate-aspartate shunt in neuronal adaptation to ischemic conditions: molecular-biochemical mechanisms of activation and regulation /I.F. Belenichev, Yu. M. Kolesnik, N.V. Buchtiyarova, S.V. Pavlov //Neurochemical Journal. - 2012, - Vol. 29, № 1. - P. 28-34.
10. Mann D.L. Mechanisms and models in heart failure" biomechanical model and beyond /D.L. Mann, M.R. Bristov //Circulation. - 2005. - Vol. 111. - P. 2837-2849.
11. Pinder M.C. Congestive heart failure in older women treated with ajuvantanthracyc-line chemotherapy for breast cancer //J. Clin. Oncol. - 2007. - Vol. 25. - P. 3808-3815.
12. Trujillo M. Peroxynitrite biochemistry-formation, reactions and detection //Analysis. - 2009. - Vol. 28, № 6. - P. 518-5.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення впливу яктону та мексикору на показники гліколізу і глюконеогенезу та енергопродукуючої функції мітохондрій в міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії, що включає дослідження біологічних тканин, який **відрізняється** тим, що викликають доксорубіцинову кардіоміопатію внутрішньочеревним введенням доксорубіцину протягом 4 тижнів в дозі 5 мг/кг 1 раз на добу, за годину до введення доксорубіцину вводять яктон в дозі 357 мг/кг протягом 4 тижнів, мексикор - в дозі 30 мг/кг, біохімічні дослідження проводять на 20-й день, стан енергетичного обміну визначають за рівнем лактату, пірувату і малату у безбілковому екстракті гомогенату серця, отримані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають вплив яктону та мексикору на показники гліколізу і глюконеогенезу та енергопродукуючої функції мітохондрій в міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії.

Комп'ютерна верстка І. Сковцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601