

УДК 616.127;615.224;577.124

В.В. Сачок<sup>1</sup>, Л.Л. Аршиннікова<sup>2</sup>**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ АНТАГОНІСТІВ КАЛЬЦІЮ АМЛОДИПІНУ ТА ДИМЕОДИПІНУ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ГОМЕОСТАЗ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ДОКСОРУБІЦИНОВОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ**<sup>1</sup>ДУ „Інститут фармакології та токсикології НАМН України”, м. Київ,<sup>2</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

**Резюме.** Отримані експериментальні дані показали здатність антагоністів кальцію третього покоління похідних 1,4-дигідропіридину-амлодипіну (1,5 мг/кг) чи димедипіну (1,5 мг/кг) відновлювати рівень аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ) та показники

енергетичного гомеостазу в серці щурів при доксорубіциновій кардіоміопатії.

**Ключові слова:** димедипін, амлодипін, АТФ, АДФ, АМФ, серце.

**Вступ.** Використання доксорубіцину для лікування онкологічних захворювань пов'язано з ризиком розвитку в пацієнтів серцево-судинних ускладнень: аритмій, перикардитів, міокардитів, кардіоміопатій, дисфункції лівого шлуночка, гострої та хронічної серцевої недостатності. Виразність кардіотоксичності доксорубіцину залежить від його дози та кумулятивної дії, внаслідок чого можуть виникати структурні і, як правило, незворотні зміни в кардіоміоцитах [6, 7, 8].

Патогенез розвитку серцевої патології при доксорубіциновій інтоксикації має різноманітний характер. Пошкодження міокарда відбувається за рахунок утворення активних форм кисню і вільних радикалів, підвищення внутрішньоклітинного рівня заліза, пошкодження мембран клітин, порушення скорочення саркомера, клітинного та мітохондріального кальцієвого гомеостазу, розвитку апоптозу та некрозу кардіоміоцитів. Перераховані механізми патогенезу сприяють негативним змінам в енергетичному метаболізмі кардіоміоцитів із розвитком енергодефіциту міокарда [7, 10, 12].

Блокатори кальцієвих каналів дигідропіридинового ряду блокують потенціалзалежні кальцієві канали L-типу в кардіоміоцитах, у гладеньких м'язках судин серця, знижують надходження та концентрацію іонів кальцію в клітинах, тим самим сприяють зменшенню контрактири міофібрил, споживанню енергії, збільшенню надходження кисню до міокарда завдяки дилатації судин. Амлодипін володіє також антиоксидантними властивостями за рахунок спорідненості до ліпідного шару мембран клітин, що гальмує перекисне окиснення ліпідів, утворення активних форм кисню та розвитку апоптозу кардіоміоцитів [11].

**Мета дослідження.** Вивчити вплив блокаторів кальцієвих каналів третього покоління похідних 1,4-дигідропіридину-амлодипіну і нового фторвмісного похідного димедипіну на енергетичний обмін міокарда у щурів за умов експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії та оцінити ефективність дії димедипіну порівняно з референтним препаратом амлодипіном.

**Матеріал і методи.** Досліди проведено на нелінійних щурах (n=81) обох статей масою тіла 168,82±10,44 г. Тварини були розподілені на чотири групи: 1-ша група (n=11) – інтактні тварини, 2-га

(n=30) – контрольні щури з моделлю доксорубіцинової кардіоміопатії (ДК), 3-тя (n=20) – дослідна група щурів з моделлю ДК, ліковані амлодипіном, 4-та (n=20) – тварини з ДК, ліковані димедипіном. Патологію викликали шляхом в/ч введення доксорубіцину гідрохлориду (Україна, ВАТ «Київмедпрепарат») у дозі 5 мг/кг маси тіла щурів один раз на тиждень упродовж чотирьох тижнів [1]. Тварин починали лікувати після третього введення доксорубіцину гідрохлориду амлодипіном у дозі 1,5 мг/кг маси тіла тварин (Україна, ТОВ «ФК «Здоров'я») чи димедипіном у дозі 1,5 мг/кг маси тіла тварин (Україна, ЗАТ НВЦ «Борцаг. хім. – фарм. завод») [4] в/ш через зонд один раз на добу. Доза амлодипіну та димедипіну відповідала шестикратному зменшенню 1/100 ЛД<sub>50</sub>. З урахуванням вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою метою» (м. Страсбург, 1986), тварин виводили з експерименту на 35-ту та 42-гу добу. Після декапітації у щурів розтинали грудну клітку, видаляли серце, з подальшим відмиванням від крові охолодженим розчином 0,9 % КСІ, висушували фільтрувальним папером та заморожували у рідкому азоті [5].

Після гомогенізації тканини серця досліджувався рівень вільних аденінуклотидів (АТФ, АДФ, АМФ), котрі визначали у безбілковому перхлорному екстракті 1:4 (0,6 М НСІО<sub>4</sub>), нейтралізованому 5 М К<sub>2</sub>СО<sub>3</sub> за допомогою методу високочастотної електрофорезу на папері, з подальшою спектрофотометрією (СФ-26) при довжині хвиль 260 та 290 нм [9]. Розраховували показники енергетичного гомеостазу: суму аденілових нуклеотидів (Σ АН); енергетичний потенціал (ЕП):  $EP = [ATP] / [ADP]$ ; індекс фосфорилування (ІФ):  $IF = [ATP] / [ADP] + [AMP]$ ; термодинамічний контроль дихання (ТКД):  $TKD = [ADP] / [AMP]$ ; енергетичний заряд (ЕЗ) клітини – енергетичний заряд Аткинсона:  $EZ = [ATP] + [1/2 ADP] / [ATP] + [ADP] + [AMP]$ ; порівняльний коефіцієнт (K<sub>пор</sub>):  $K_{пор} = [ATP] + [AMP] / [ADP]$  [2].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою комп'ютерної програми «MSExcel – 2007» (Microsoft Corp., USA). При попарному порівнянні використовували поправку Бонферроні [3].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Аналізуючи дані експериментального досліджен-

Таблиця

Вплив амлодипіну(1,5мг/кг) та димеодипіну(1,5мг/кг) на рівень аденілових нуклеотидів (мкмоль/г) і показники енергетичного обміну (відн. од.) у тканині серця щурів при доксорубіциновій кардіоміопатії (ДК) (M±m)

Показники	Інтактні (n=11)	Контроль, ДК (n=5-6)		ДК+амлодипін (n=4-5)		ДК + димеодипін (n=5)	
		35-га доба	42-га доба	35-га доба	42-га доба	35-га доба	42-га доба
АТФ	2,99±0,14	1,1±0,07*	0,97±0,09*	2,49±0,2 <sup>#</sup>	2,34±0,2 <sup>#</sup>	2,37±0,2 <sup>#</sup>	2,38±0,2 <sup>#</sup>
АДФ	2,18±0,13	1,37±0,1*	1,28±0,17*	2,47±0,1 <sup>#</sup>	2,01±0,15 <sup>#</sup>	2,17±0,06 <sup>#</sup>	2,1±0,2 <sup>#</sup>
АМФ	1,2±0,09	0,83±0,09*	0,84±0,1*	1,45±0,14 <sup>#</sup>	1,37±0,1 <sup>#</sup>	1,49±0,19 <sup>#</sup>	1,26±0,09 <sup>#</sup>
ΣАН	6,38±0,27	3,3±0,25*	3,1±0,34*	6,42±0,35 <sup>#</sup>	5,73±0,18 <sup>#</sup>	6,03±0,37 <sup>#</sup>	5,74±0,47 <sup>#</sup>
ЕЗ	0,64±0,01	0,53±0,01*	0,52±0,01*	0,58±0,01 <sup>*#</sup>	0,58±0,01 <sup>*#</sup>	0,57±0,01 <sup>*#</sup>	0,59±0,01 <sup>*#</sup>
ЕП	1,4±0,07	0,8±0,03*	0,79±0,06*	1,0±0,04 <sup>#</sup>	1,19±0,1 <sup>#</sup>	1,09±0,07 <sup>*#</sup>	1,14±0,03 <sup>*#</sup>
ТКД	1,89±0,16	1,69±0,16	1,54±0,16	1,77±0,2	1,52±0,24	1,54±0,19	1,69±0,2
ІФ	0,9±0,04	0,5±0,02*	0,47±0,03*	0,63±0,04 <sup>*#</sup>	0,69±0,06 <sup>*#</sup>	0,65±0,05 <sup>*#</sup>	0,71±0,04 <sup>*#</sup>
К <sub>ПОР</sub>	1,97±0,1	1,4±0,08*	1,47±0,1*	1,6±0,06*	1,9±0,2	1,77±0,1 <sup>#</sup>	1,76±0,08

Примітка. \* – вірогідність порівняно з інтактними тваринами P≤0,05; # – вірогідність відмінностей порівняно з контролем P≤0,05

ня, які представлені в таблиці, встановлено, що при моделюванні доксорубіцинової патології в серці щурів розвивається дисбаланс у системі АТФ – АДФ – АМФ. Так, на всіх етапах досліджень (35-та та 42-га доба) у контрольних групах щурів з ДК порівняно з інтактними тваринами вірогідно знижується рівень АТФ у середньому в три рази, АДФ – 1,6 рази, АМФ – 1,4 рази. Уведення тваринам амлодипіну або димеодипіну запобігає зниженню рівня пулу аденолових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ) у міокарді щурів з модельованою патологією. Про це свідчить вірогідне ( $P < 0,05$ ) підвищення вмісту макроергів в усі терміни досліджень порівняно з відповідними контрольними групами та майже наближення цих показників до рівня інтактних тварин.

Для більш детального аналізу енергетичного гомеостазу в щурів із викликану патологією розраховуються показники процесів енергетично-го синтезу та витрат у міокарді.

Про енергетичний стан клітин у цілому свідчить енергетичний заряд клітин (ЕЗ), котрий у контрольних групах тварин упродовж усіх етапів досліджень знаходиться вірогідно ( $P < 0,05$ ) зниженим порівняно з інтактними тваринами. Після проведеного лікування амлодипіном чи димеодипіном у дослідних групах вірогідно підвищується ЕЗ на 35-ту та 42-гу добу спостережень порівняно з контрольними групами, але залишається вірогідно ( $P < 0,05$ ) зниженим по відношенню до інтактних тварин.

Аналізуючи дані величини енергетичного потенціалу (ЕП) в контрольних щурів із ДК, цей показник знижується впродовж експерименту в середньому на 43 % порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про порушення швидкості дихання в мітохондріях кардіоміоцитів. Застосування амлодипіну чи димеодипіну в щурів на тлі викликані патології сприяє вірогідному ( $P < 0,05$ ) збільшенню показника ЕП упродовж експерименту порівняно з контрольними тваринами. Наприкінці експерименту (42-га доба) застосування амлодипіну призвело до наближення показника ЕП до рівня інтактних тварин. У тварин, які отримували димеодипін, показник ЕП на всіх етапах досліджень залишався вірогідно ( $P < 0,05$ ) нижчим відповідно до інтактних тварин.

Характеристику стану процесу фосфорилування клітин серця визначає показник термодинамічного контролю дихання (ТКД). Упродовж експерименту в контрольних та піддослідних групах тварин можна відмітити невірогідне зниження показника ТКД.

Індекс фосфорилування (ІФ) у контрольних групах тварин з ДК на 35-ту та 42-гу добу вірогідно ( $P < 0,05$ ) та суттєво на 44 % та 48 % знижений відносно до інтактних тварин відповідно, що вказує на зменшення інтенсивності процесу фосфорилування в міокарді щурів. Після проведеного лікування амлодипіном чи димеодипіном у щурів вірогідно підвищується ІФ відносно до контрольних груп на 35-ту та 42-гу добу: при

застосуванні амлодипіну на 26 % та 47 %, димеодипіну – на 30 % та 51 % відповідно. До кінця експерименту ІФ залишається вірогідно ( $P < 0,05$ ) зниженим у піддослідних групах порівняно до аналогічного показника в інтактних тварин.

Аналізуючи динаміку коефіцієнта порівняння ( $K_{пор}$ ), котрий відображає співвідношення прямої та зворотної реакції перетворень АДФ, відмічається в контрольних групах тварин вірогідне ( $P < 0,05$ ) зниження відносно до інтактних тварин на 35-ту та 42-гу добу на 29 % та 25 % відповідно. Після проведеного лікування амлодипіном у дослідних групах тварин на 42-гу добу  $K_{пор}$  наближується до рівня інтактною групи. На 42-гу добу застосування амлодипіну  $K_{пор}$  наблизився до рівня інтактних тварин. При застосуванні димеодипіну  $K_{пор}$  у тварин немає вірогідних відмінностей із показником інтактних тварин упродовж експерименту.

Таким чином, дані показників (ЕЗ, ЕП, ТКД, ІФ,  $K_{пор}$ ) енергетичного гомеостазу в щурів на тлі доксорубіцинової кардіоміопатії після проведеного лікування амлодипіном чи димеодипіном свідчить про вірогідне покращання енергетичного обміну в міокарді порівняно з аналогічними у контрольних групах тварин з ДК, але залишаються нижчими порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про значні порушення процесів фосфорилування в кардіоміоцитах щурів при доксорубіцинової кардіоміопатії.

### Висновки

1. Отримані експериментальні дані дозволяють констатувати, що антагоністи кальцію третього покоління дигідропіридинового ряду амлодипін та димеодипін проявляють кардіопротекторну дію у щурів за умов експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії, нормалізують рівень аденолових нуклеотидів, регулюють показники енергетичного гомеостазу в тканині серця.

2. Новий фторвмісний препарат похідний 1,4-дигідропіридину димеодипін діє ідентично з референтним препаратом амлодипіном, покращуючи енергетичний обмін у міокарді щурів при доксорубіцинової кардіоміопатії.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати проведеного дослідження експериментально обґрунтовують доцільність використання антагоністів кальцію при лікуванні хворих на ішемічну хворобу серця.

### Література

1. Капелько В.И. Метаболические и функциональные основы экспериментальных кардиоміопатий / В.И. Капелько, М.И. Попович. – Кішнев: Штиинца, 1990. – 207 с.
2. Ланинджер А. Основы биохимии / А. Ланинджер. – М.: Мир, 1985. – Т. 1, № 3. – 1056 с.
3. Лапач С.Н. Статистика в науке и в бизнесе / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабиц. – К.: Морион, 2002. – 639 с.
4. Мохорт М.А. Кардіотропна дія нового антагоніста кальцію дигідропіридинового ряду /

- М.А. Мохорт, Н.М. Серединська, А.С. Шаламай // Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту. – 2007. – Вип. 11. – С. 489-493.
5. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический). Учебное пособие / М.И. Прохорова. – Л.: Изд. Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
  6. Early and delayed clinical cardiotoxicity of doxorubicin / A.U. Buzdar, C.Marcus, T.L. Smith [et al.] // Cancer. – 1985. – Vol. 55 (12). – P. 2761-2765.
  7. Ferreira ALA. Anthracycline – induced cardiotoxicity / ALA. Ferreira, L.S. Matsubara, B.B. Matsubara // Cardiovas. and Hematolog. Agents in Med. Chem. – 2008. – Vol. 6 (4). – P. 278-281.
  8. Cardiac side – effects of cancer chemotherapy / J.J. Monsuez, J.C. Charniot, N. Vignat [et al.] // Intern. J. of Cardiology. – 2010. – Vol. 144 (1). – P. 3-15.
  9. Sato T.K. Electrochromatographic separation of inorganic phosphate adenosine monophosphate, adenosine diphosphate and adenosine triphosphate / T.K. Sato, T.F. Thomson, W.T. Danforth // Analyt. Biochem. – 1963. – № 5. – P. 542-547.
  10. Anthracycline – induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron / T. Šimůnek, M. Štěřba, O. Popelová [et al.] // Pharmacol. Reports. – 2009. – Vol. 61 (1). – P. 154-171.
  11. Amlodipine inhibits doxorubicin - induced apoptosis in neonatal rat cardiac myocytes / S. Yamana, T. Tatsumi, J. Shiraishi [et al.] // J. Amer. Coll. Cardiology. – 2003. – Vol. 41. – P. 870-878.
  12. Cardiomyocyte death in doxorubicin – induced cardiotoxicity / Y.W. Zhang, J. Shi, Y.J. Li [et al.] // Arch. Immunol. et Ther. Experim. – 2009. – Vol. 57 (6). – P. 435-445.

### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТАГОНИСТОВ КАЛЬЦИЯ АМЛОДИПИНА И ДИМЕОДИПИНА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ГОМЕОСТАЗ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ДОКСОРУБИЦИНОВОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

*В.В. Сачок, Л.Л. Аршинникова*

**Резюме.** Полученные экспериментальные данные показали способность антагонистов кальция третьего поколения производных 1,4-дигидропиридина амлодипина (1,5 мг/кг) или димеодипина (1,5 мг/кг) восстанавливать уровень адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ) и показатели энергетического гомеостаза в сердце крыс при доксорубициновой кардиомиопатии.

**Ключевые слова:** димеодипин, амлодипин, АТФ, АДФ, АМФ, сердце.

### A STUDY OF THE EFFECT OF ANTAGONISTS OF CALCIUM AMLODIPINE AND DIMEODIPINE ON ENERGY HOMEOSTASIS IN RATS UNFER THE CONDITIONS OF DOXORUBICIN – INDUCED CARDIOMYOPATHY

*V.V. Sachok, L.L. Arshynnikova*

**Abstract.** The obtained experimental data have demonstrated the ability of calcium antagonists of the third generation derivatives of 1,4-dihydropyridine amlodipine (1,5 mg/kg) or dimeodipine (1,5 mg/kg) to restore the level of adenine nucleotides (ATP, ADP, AMP) and the indices of energy homeostasis in the rat hearts in doxorubicin – induced cardiomyopathy.

**Key words:** dimeodipine, amlodipine, ATP, ADP, AMP, heart.

SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of Ukraine's NAMS» (Kyiv),  
National Medical University Named after O.O. Bohomolets' (Kyiv)

Рецензент – проф. Р.Б. Косуца

Buk. Med. Herald. – 2012. – Vol. 16, № 3 (63), part 1. – P. 99-102

Надійшла до редакції 03.07.2012 року