



УДК 577.18:577.23

© 2007

О. Б. Кучменко, Д. М. Петухов,
член-кореспондент НАН України Г. В. Донченко

Дія адриаміцину на біоенергетичні процеси в тканинах печінки та серця щурів і її корекція попередниками та модуляторами біосинтезу убіхінону

The results of studies of the effect of complexes of precursors and modulators of coenzyme Q biosynthesis bioenergetical processes under adriamycin-induced cardiomyopathy are given. We show that adriamycin-induced cardiomyopathy is characterized by changes in bioenergetical processes, particularly in the coenzyme Q content and in the activity of complexes II and IV of the mitochondrial electron transport chain. Treatment of experimental animals with complexes of precursors and modulators of coenzyme Q biosynthesis normalizes the coenzyme Q content and the function of the mentioned enzyme complexes. Data presented may become a basement for the development of approaches to adriamycin cardiotoxicity correction.

Проблема забезпечення організму людини та тварин убіхіноном (CoQ) за рахунок його ендогенного синтезу завжди є актуальною у зв'язку з тим, що цей багатостадійний процес залежить від функціонального стану організму, порушення механізмів регуляції якого виникають при недостатньому, нераціональному харчуванні, нестачі вітамінів, несприятливих екологічних умовах та ін., не кажучи вже про різноманітні захворювання, що супроводжуються змінами енергетичного обміну взагалі та гальмуванням біосинтезу CoQ зокрема [1, 2]. Для забезпечення потреб організму необхідне додаткове надходження CoQ ззовні у вигляді продуктів, збагачених CoQ, лікувальних препаратів (що економічно не вигідно) або проведення заходів, направлених на інтенсифікацію процесів біосинтезу в організмі.

У попередніх дослідженнях показано, що при згодовуванні вітаміну Е різним видам тварин у них значно підсилюється біосинтез, накопичення та функціонування CoQ [2]. Крім того, встановлено, що один з проміжних продуктів біосинтезу CoQ — параоксibenзойна кислота (ПОВК) на рівні з вітаміном Е запобігає розвитку м'язової дистрофії і викликає аналогічні за напрямком зміни активності убіхінонзалежних ферментних систем мітохондрій [3]. Показано, що метіонін є важливим донором метильних груп у синтезі поліізопреноїдного бокового ланцюга CoQ.

На сьогодні серцево-судинні та онкологічні захворювання є найбільш поширеними і займають відповідно перше і друге місце за рівнем інвалідазації населення і смертності. Разом

з тим часто застосування певних лікарських засобів супроводжується розвитком численних ускладнень, які можуть призводити до значного погіршення стану пацієнтів. Зокрема, адриаміцин (доксорубіцин) є відомим антибіотиком антрациклінового ряду і одним із найбільш ефективних засобів в онкотерапії. Але досить часто при його застосуванні розвивається кардіоміопатія і серцева недостатність [4]. Ушкоджуючий вплив адриаміцину пов'язують з активуванням процесів вільнорадикального окиснення і розвитком окиснювального стресу, порушенням процесу транскрипції в ядрах, окиснювального фосфорилування внаслідок зв'язування адриаміцину з кардіоліпіном внутрішньої мембрани мітохондрій [5].

Застосування адриаміцину супроводжується достовірним зниженням вмісту CoQ. Дефіцит CoQ призводить до порушення біоенергетичного обміну, що може стати однією з причин розвитку адриаміцинової кардіоміопатії [6].

У зв'язку з вищесказаним ми ставили за мету дослідити дію активаторів і модуляторів біосинтезу CoQ, а саме вітаміну Е, ПОВБ (попередник синтезу бензохінонового ядра), метіоніну (донор метоксильних груп у бензохіноновому ядрі молекули CoQ) та диметилсульфоксиду (як транспортна молекула для жиророзчинних компонентів, модулятор стану мембранних структур та антиоксидант) на біоенергетичні процеси в тканинах печінки та серця дослідних тварин за умов дії адриаміцину.

Матеріали та методи. У досліді використовували щурів масою 250–300 г. Адриаміцин (доксорубіцин-КМП, доксорубіцину гідрохлорид, ВАТ “Київмедпрепарат”, Україна) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 2,2 мг/кг маси тіла щоденно протягом 8 діб [7, 8]. Згідно з даними літератури, цю дозу препарату можна зіставити з терапевтичним дозуванням [7]. Контрольна група щурів отримувала фізіологічний розчин у такому ж об'ємі. Дослідні групи тварин разом з розчином адриаміцину отримували комплекси біологічно активних речовин перорально, що є попередниками і модуляторами біосинтезу CoQ, а саме α -токоферолацетат (вітамін Е), ПОВБ, метіонін і диметилсульфоксид.

Тварин було поділено на чотири групи по шість особин у кожній: I група — контрольні (інтактні) тварини; II група (А) — тварини, яким вводили розчин адриаміцину; III група (А + ЕПМ) — тварини, які разом з адриаміцином отримували вітамін Е в дозі 10 мг/кг маси тіла, ПОВБ у дозі 100 мг/кг маси тіла і метіонін у дозі 100 мг/кг маси тіла; IV група (А + ЕПМД) — тварини, які разом з адриаміцином отримували вітамін Е в дозі 10 мг/кг маси тіла, ПОВБ у дозі 100 мг/кг маси тіла, метіонін у дозі 100 мг/кг маси тіла і диметилсульфоксид у дозі 75 мг/кг маси тіла.

Через 18 год тварин декапітували з урахуванням вимог Міжнародної конвенції з правил гуманного поводження з дослідними тваринами. Розраховували відношення маси серця до маси тіла тварин. У гомогенатах печінки і міокарда визначали вміст CoQ та вітаміну Е за методом Г. В. Донченка та співавт. [9]; у мітохондріях печінки і серця визначали вміст вітаміну Е, CoQ та активності сукцинат- і НАДН-убіхінонредуктазних систем (SQR, NQR відповідно) [10, 11], цитохромоксидазну активність [12]; в ядерній фракції печінки та серця визначали вміст вітаміну Е, CoQ. Білок визначали методом Лоурі [13].

Результати роботи оброблені за допомогою методів варіаційної статистики. Числові дані представлені у формі середньої величини зі стандартною похибкою ($M \pm m$). Достовірність оцінювали за критерієм Стьюдента (t).

Результати дослідження. Згідно з проведеними розрахунками, відношення маси серця до маси тіла піддослідних тварин при введенні адриаміцину в дозі 2,2 мг/кг маси тіла достовірно знижується порівняно з інтактними тваринами (табл. 1), що може слугувати

маркером розвитку адриаміцинової кардіоміопатії [8, 14]. Введення комплексів досліджуваних біологічно активних сполук не спричиняло зростання цього показника.

Вміст вітаміну Е в гомогенатах печінки як за умов адриаміцинової кардіоміопатії, так і при введенні комплексів достовірно не змінюється (табл. 2). У мітохондріях печінки (див. табл. 2) вміст вітаміну Е за умов введення адриаміцину достовірно не змінюється порівняно з інтактними тваринами. При введенні комплексу ЕПМ на фоні введення адриаміцину вміст вітаміну Е достовірно зростає, а при додаванні до комплексу диметилсульфоксиду — знижується до рівня контролю. На противагу цьому в мітохондріях серця вміст вітаміну Е за умов введення адриаміцину достовірно зростає, а при введенні комплексів ЕПМ і ЕПМД — знижується до рівня контролю.

Вміст вітаміну Е в ядерній фракції печінки щурів (див. табл. 2) достовірно не змінюється за умов введення адриаміцину і при додатковому введенні комплексу ЕПМ. При введенні комплексу ЕПМД спостерігається достовірне зростання вмісту вітаміну Е порівняно з таким у контрольній групі і групі з адриаміциновою кардіоміопатією. В ядерній фракції клітин серця (див. табл. 2) введення адриаміцину спричиняє достовірне зниження вмісту вітаміну Е порівняно з контролем. Введення комплексів ЕПМ і ЕПМД приводить до нормалізації цього показника.

Результати дослідження біосинтезу CoQ (див. табл. 2) показали, що за умов розвитку адриаміцинової кардіоміопатії вміст CoQ в гомогенатах печінки піддослідних тварин досто-

Таблиця 1. Відношення маси серця до маси тіла піддослідних тварин ($n = 6$; $M \pm m$)

Група тварин	Маса серця, мг	Маса тіла, г	Відношення маси серця до маси тіла
Контроль	775,00 ± 40,06	280,00 ± 3,65	2,77 ± 0,14
A	591,67 ± 36,83*	248,33 ± 5,43*	2,38 ± 0,14*
A+ЕМП	655,00 ± 22,17*	266,67 ± 6,67***	2,46 ± 0,11*
A+ЕМПД	596,67 ± 43,64*	268,33 ± 18,87	2,23 ± 0,10*

* Різниця достовірна порівняно з контролем ($p < 0,05$).

** Різниця достовірна порівняно з групою А ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Вміст вітаміну Е та CoQ в тканинах печінки і серця щурів за умов адриаміцинової кардіоміопатії та дії комплексів біологічно активних сполук ($n = 6$; $M \pm m$)

Тканина	Група тварин			
	Контроль	A	A + ЕМП	A + ЕМПД
Вміст вітаміну Е, мг/г білка (у гомогенатах печінки щурів в мкг/г білка)				
Гомогенати печінки	721,34 ± 19,42	751,04 ± 17,51	776,47 ± 103,06	714,78 ± 104,75
Мітохондрії печінки	2,63 ± 0,39	2,57 ± 0,56	3,79 ± 0,25***	2,95 ± 0,28
Мітохондрії серця	7,19 ± 0,86	10,01 ± 1,20*	6,83 ± 0,82**	8,41 ± 1,01
Ядерна фракція печінки	0,65 ± 0,14	0,43 ± 0,13	0,97 ± 0,25**	1,20 ± 0,11***
Ядерна фракція серця	4,31 ± 0,51	2,59 ± 0,31*	5,21 ± 0,62**	4,89 ± 0,58**
Вміст CoQ, мкг/г білка				
Гомогенати печінки	636,73 ± 151,70	328,68 ± 53,51*	486,56 ± 68,20**	497,56 ± 80,75**
Мітохондрії печінки	221,08 ± 14,42	628,28 ± 28,07*	619,83 ± 68,38*	484,34 ± 27,10***
Мітохондрії серця	110,07 ± 14,38	286,60 ± 37*	101,26 ± 13,23**	174,59 ± 22,82***
Ядерна фракція печінки	3699,03 ± 640,93	4865,05 ± 124,32*	4237,64 ± 1124,96	4322,67 ± 370,83
Ядерна фракція серця	2352,41 ± 259,71	2073,33 ± 228,90	4364,90 ± 481,89***	2142,16 ± 236,42

* Різниця достовірна порівняно з контролем ($p < 0,05$).

** Різниця достовірна порівняно з групою А ($p < 0,05$).

вірно знижується. При цьому пероральне введення комплексів ЕПМ і ЕПМД в однаковій мірі сприяє зростанню величини цього показника порівняно з таким у тварин, що отримували адриаміцин, до рівня контролю. У мітохондріях печінки щурів вміст CoQ (див. табл. 2) за умов розвитку адриаміцинової кардіоміопатії достовірно істотно зростає. При введенні комплексів ЕПМ і ЕПМД рівень убіхінону залишається досить високим порівняно з контролем. У мітохондріях серця за умов розвитку адриаміцинової кардіоміопатії вміст CoQ також істотно зростає порівняно з контролем (див. табл. 2). Отже, за умов моделювання патологічного стану відбуваються однонаправлені зміни вмісту CoQ в мітохондріях печінки і серця, що можна пояснити перерозподілом пулу CoQ і розвитком реакції пристосування. За умов введення ЕПМ і ЕПМД вміст CoQ зменшується до контрольних значень.

Вміст CoQ в ядерній фракції печінки щурів (див. табл. 2) за умов введення адриаміцину достовірно зростає порівняно з контролем. При введенні комплексів ЕПМ і ЕПМД спостерігається нормалізація цього показника в порівнянні з таким у контрольних тварин, хоча при додаванні ЕПМ вміст CoQ достовірно не відрізняється також і від групи з адриаміциновою кардіоміопатією. На відміну від ядерної фракції клітин печінки в ядерній фракції клітин серця (див. табл. 2) при введенні адриаміцину не відбувається достовірних змін вмісту CoQ. Проте введення комплексу ЕПМ спричиняє досить істотне зростання його вмісту. Введення ЕПМД не викликає жодних достовірних змін вмісту CoQ ні порівняно з контрольними тваринами, ні з тваринами з адриаміциновою кардіоміопатією.

Аналіз НАДН-убіхінон-оксидоредуктазної активності (NQR-активності) в мітохондріях печінки (табл. 3) свідчить про те, що у тварин усіх експериментальних груп не відбувається достовірних змін порівняно з контролем. При цьому відсоток дефіциту CoQ для NQR також практично не змінюється порівняно з контролем у всіх експериментальних групах. У мітохондріях серця піддослідних щурів (див. табл. 3), як і в мітохондріях печінки, NQR-активність достовірно не змінюється порівняно з контролем при введенні адриаміцину. Тільки при введенні комплексу ЕПМД відбувається певне зростання NQR-активності порівняно з такою у тварин контрольної групи і тварин з адриаміциновою кардіоміопатією. При цьому істотно підвищується відсоток дефіциту CoQ для цього ферментного комплексу при введенні адриаміцину. При введенні досліджуваних комплексів відсоток дефіциту CoQ для NQR істотно знижується.

Сукцинат-убіхінон-оксидоредуктазна активність (SQR-активність) в мітохондріях печінки за умов введення адриаміцину достовірно знижується (див. табл. 3), при цьому зростає відсоток дефіциту CoQ для SQR. Оскільки вміст CoQ в мітохондріях печінки достовірно зростає порівняно з контролем, а SQR-активність знижується, очевидно, частина пулу CoQ не є доступною для ферменту. Також можливою причиною зниження активності ферменту може бути окисне пошкодження мембранних структур чи самої ферментної системи. При введенні комплексів ЕПМ і ЕПМД відбувається нормалізація SQR-активності. В мітохондріях серця щурів, як і в мітохондріях печінки, за умов адриаміцинової кардіоміопатії SQR-активність достовірно знижується порівняно з контролем, хоча відсоток дефіциту CoQ для SQR залишається майже незмінним (див. табл. 3). Враховуючи той факт, що вміст CoQ в мітохондріях серця, як і в мітохондріях печінки, достовірно зростає за умов введення адриаміцину, а SQR-активність знижується, очевидно, у даному випадку задіяні ті самі механізми, що і в мітохондріях печінки. При введенні комплексів ЕПМ і ЕПМД в мітохондріях серця відбувається зростання SQR-активності порівняно з такою у інтактних тварин і тварин з адриаміциновою кардіоміопатією.

Цитохромоксидазна активність в мітохондріях печінки піддослідних тварин за умов введення адриаміцину достовірно знижується порівняно з контролем (табл. 4). Ці зміни можуть призвести до порушення процесу транспорту відновлених еквівалентів у ланцюзі транспорту електронів у мітохондріях і в результаті до пригнічення процесу дихання. Ці експериментальні дані узгоджуються з даними літератури про те, що при введенні адриаміцину порушуються процеси окисного фосфорилування. При введенні комплексів ЕПМ і ЕПМД цитохромоксидазна активність в мітохондріях печінки нормалізується. У мітохондріях серця цитохромоксидазна активність також достовірно знижується при розвитку адриаміцинової кардіоміопатії (див. табл. 4) і, на відміну від мітохондрій печінки, залишається на низькому рівні при введенні комплексів біологічно активних речовин, а при введенні ЕПМД навіть ще більше знижується.

Таблиця 3. NQR- і SQR-активність та відсоток дефіциту CoQ для NQR і SQR відповідно в мітохондріях печінки і серця щурів за умов адриаміцинової кардіоміопатії та дії комплексів біологічно активних сполук ($n = 6$; $M \pm m$)

Тканина	Група тварин			
	Контроль	А	А + ЕМП	А + ЕМПД
NQR-активність, ммоль окисненого НАДН/(хв · мг білка)				
Мітохондрії печінки				
ендогенна	0,65 ± 0,09	0,70 ± 0,09	0,84 ± 0,13	0,87 ± 0,12
екзогенна	1,99 ± 0,14	2,38 ± 0,22	2,52 ± 0,31*	2,76 ± 0,34*
Дефіцит CoQ, %	67,36	70,49	66,62	68,32
Мітохондрії серця				
ендогенна	4,86 ± 0,11	5,18 ± 0,41	5,47 ± 0,42*	5,61 ± 0,26*
екзогенна	5,52 ± 0,10	6,58 ± 0,30*	5,75 ± 0,81	6,00 ± 0,26*
Дефіцит CoQ, %	11,87	21,22	4,93	6,56
SQR-активність, ммоль окисненого сукцинату/(хв · мг білка)				
Мітохондрії печінки				
ендогенна	27,87 ± 3,55	21,29 ± 1,95*	29,79 ± 3,73**	28,44 ± 3,23**
екзогенна	127,91 ± 27,72	203,09 ± 46,58	194,45 ± 31,86*	191,52 ± 25,68*
Дефіцит CoQ, %	78,21	89,52	84,68	85,15
Мітохондрії серця				
ендогенна	14,90 ± 0,24	8,24 ± 0,87*	26,32 ± 1,43*,**	24,92 ± 2,79*,**
екзогенна	148,59 ± 8,84	137,69 ± 18,64	211,62 ± 1,71*,**	191,67 ± 11,94*,**
Дефіцит CoQ, %	89,98	94,01	87,56	87,00

* Різниця достовірна порівняно з контролем ($p < 0,05$).

** Різниця достовірна порівняно з групою А ($p < 0,05$).

Таблиця 4. Цитохромоксидазна активність в мітохондріях печінки і серця щурів за умов адриаміцинової кардіоміопатії та дії комплексів біологічно активних сполук, мкмоль окисненого цитохрому c /(год · мг білка) ($n = 6$; $M \pm m$)

Група тварин	Мітохондрії печінки	Мітохондрії серця
Контроль	2,55 ± 0,24	5,04 ± 0,63
А	1,29 ± 0,27*	3,28 ± 0,41*
А+ЕМП	3,12 ± 0,65**	3,32 ± 0,41*
А+ЕМПД	2,54 ± 0,67**	2,03 ± 0,25*,**

* Різниця достовірна порівняно з контролем ($p < 0,05$).

** Різниця достовірна порівняно з групою А ($p < 0,05$).

Таким чином, введення адріаміцину зумовлює розвиток адріаміцинової кардіоміопатії, яка супроводжується зменшенням вмісту CoQ та порушенням біоенергетичних процесів, що характеризується зниженням активності CoQ-залежних ферментних систем ланцюга транспорту електронів у мітохондріях, доступності для них CoQ. При введенні тваринам разом з адріаміцином комплексів біологічно активних сполук ЕПМ і ЕПМД відбувається нормалізація вмісту CoQ та функціональної активності CoQ-залежних ферментних систем ланцюга транспорту електронів у мітохондріях. Більш ефективним виявився комплекс ЕПМ, хоча введення комплексу ЕПМД також має значний позитивний ефект. Отримані експериментальні дані можуть лягти в основу розробки підходів корекції кардіотоксичних ефектів адріаміцину шляхом введення комплексів попередників та модуляторів біосинтезу CoQ.

1. *Донченко Г. В.* Биохимия убихинона. – Киев: Наук. думка, 1988. – 240 с.
2. *Turunen M., Olsson J., Dallner G.* Metabolism and Function of Coenzyme Q // *BBA*. – 2004. – **1660**. – P. 177–199.
3. *Пат. 73433 Україна 7 А61К31/192, 31/355, А61Р3/00.* Спосіб відновлення та активації ендogenous систем біосинтезу та функціонування убихінону в організмі / Г. В. Донченко, І. В. Кузьменко, Д. М. Петухов, К. П. Кліменко. – Заявл. 14.01.2004; Опубл. 15.07.2005, Бюл. № 7.
4. *Quiles J. L., Huertas J. R., Battino M. et al.* Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity // *Toxicology*. – 2002. – **180**, No 1. – P. 79–95.
5. *Li T., Singal P. K.* Adriamycin-induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol // *Circulation*. – 2000. – **102**, No 17. – P. 2105–2110.
6. *Quiles J. L., Ramirez-Torsosa M. C., Huertas J. R. et al.* Olive oil supplemented with vitamin E affects mitochondrial coenzyme Q levels in liver of rats after an oxidative stress induced by adriamycin // *Biofactors*. – 1999. – **9**, No 2–4. – P. 331–336.
7. *Капелько В. И., Хаткевич А. Н., Дворянцев С. Н. и др.* Сократительная функция и энергетический метаболизм сердца на ранней стадии адриамициновой кардиомиопатии // *Кардиология*. – 1997. – № 2. – С. 31–35.
8. *Muhammed H., Kupur C. K. R.* Influence of ubiquinone on the inhibitory effect of adriamycin on mitochondrial oxidative phosphorylation // *Biochem. J.* – 1984. – **214**. – P. 493–498.
9. *Донченко Г. В., Коваленко В. Н., Забарная Е. Н. и др.* Действие производных α -токоферола на содержание природных хинонов в тканях витамин Е-недостаточных крыс // *Биохимия*. – 1979. – **44**, № 5. – С. 923–930.
10. *Ziegler D., Doeg K. A.* Preparation and properties of succinate dehydrogenase-coenzyme Q reductase (complex II) // *Methods in Enzymology*. – New York, 1967. – Vol. 10. – P. 231–235.
11. *Тарасова Н. В., Иванова Г. И., Гололобов А. Д.* Участие убихинона в цепи переноса электронов у *Candida quilliermondii* // *Микробиология*. – 1976. – **45**, № 3. – С. 400–405.
12. *Гулидова Г. П., Сорокина И. Н.* Некоторые условия спектрофотометрического определения активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы в митохондриях мозга // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1967. – **63**, № 1. – С. 41–44.
13. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**. – P. 265–275.
14. *Tiempo L., Pawan K.* Adriamycin-induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol // *Circulation*. – 2000. – **102**. – P. 2105–2110.

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна
НАН України, Київ*

Надійшло до редакції 08.05.2007