

## ВПЛИВ УРОКСАЛІНУ НА ВМІСТ ДНК І РНК У СЕРЦЕВОМУ М'ЯЗІ В УМОВАХ АЛІМЕНТАРНОЇ БІЛКОВОЇ ДИСТРОФІЇ

М.О.Алексєєва, А.І.Березнякова, О.О.Алтухов, С.В.Колісник, І.Ю.Тищенко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: аліментарна білкова дистрофія; ДНК; РНК; серцевий м'яз

*Анаболічні препарати як нестероїдної, так і стероїдної структури необхідні для корекції порушень білкового обміну, які виникають у результаті численних патологічних процесів (інфекційних, метаболічних) і є наслідком або зниження синтезу, або посилення його утилізації. Тому велике значення у клінічній практиці має використання анаболічних засобів, яким властиво коригувати подібні зміни білкового обміну. На кафедрі аналітичної хімії НФаУ під керівництвом доцента С.В.Колісника був синтезований ряд нових амідованих похідних (2-оксоіндоліліден-3) карбонових кислот, серед яких виявлена субстанція, що проявляє виразну анаболічну дію, яка була умовно названа "Уроксалін". Проведені експерименти показали, що уроксалін проявляє стимулюючий вплив на вміст ДНК і РНК у серцевому м'язі щурів: оптична щільність кардіоміоцитів на РНК збільшується на 17,5% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками контролю.*

В основі регенерації лежить синтетична діяльність клітини та, в першу чергу, синтез нуклеїнових кислот [4, 5, 15]. Анаболічні процеси, які виникають на ранніх стадіях запалення, проявляються посиленням синтезу РНК та ДНК [4, 12, 13]. Саме на цьому рівні відбувається фармакологічна стимуляція процесів репарації, а саме, реалізуються механізми дії більшості відомих стимуляторів регенерації, спрямованих на збільшення кількості нуклеїнових кислот і білка [10, 13, 14, 15]. Вивчення впливу уроксаліну на синтез нуклеїнових кислот у гомогенаті серцевого м'яза було викликано необхідністю уточнити інтимні механізми його анаболічної дії.

Метою даної роботи стало вивчення впливу уроксаліну на вміст ДНК і РНК в серцевому м'язі в умовах аліментарної білкової дистрофії.

### Матеріали та методи

Аліментарну білкову дистрофію моделювали за методом [3,

7]. Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи по 10 особин у кожній: 1 група — інтактний контроль (щери з аліментарно-білковою дистрофією без лікування); 2 група — тварини, яким внутрішньошлунково вводили уроксалін у дозі 10,7 мг/кг; 3 група — щери, які отримували препарат порівняння калію оротат у дозі 28 мг/кг (ED<sub>50</sub>) [1]. Протягом експерименту щурів (14 днів) утримували на стандартному воднохарчовому раціоні [5]. Визначення впливу уроксаліну на вміст нуклеїнових кислот проводили на статевонезрілих нелінійних щурах обох статей з вхідною масою 50,0-60,0 г.

Вміст РНК і ДНК та оптичну густину у серцевому м'язі визначали біохімічними методами [2, 10, 12, 13]. Перед визначенням кількісного вмісту ДНК (показник кількості клітин серцевого м'язу) та РНК (показник біосинтетичної активності) у серцевому м'язі проводили їх розділення шляхом гідролізу дослідного матеріалу слабким лугом, при якому від-

бувається розщеплення РНК по 3',5'-фосфодієфірному зв'язку до мононуклеотидів. У цих умовах ДНК стійка до дії лугів, що робить можливим виділення у вигляді осаду [2]. Визначення РНК проводили в центрифугаті за методом В.В.Мейбаума (1945) з орцином [Северин С.Е. зі співроб., 1989]. До 2 мл розчину РНК додавали таку ж кількість розчину орцину, нагрівали на киплячій водянній бані протягом 20 хв і охолоджували. Рідина забарвлювалась у зелений колір. Далі вимірювали поглинання розчину на фотоелектроколориметрі з червоним світлофільтром (670 нм). Вміст РНК вираховували за калібрувальною кривою.

Визначення ДНК проводили за методом П.Шмідта і С.Тангаузера з використанням реактиву Дише [2]. В отриманому гідролізаті визначали вміст ДНК: до 2 мл суспензії ДНК доливали подвійний об'єм розчину Дише (суміш дифеніламіну з крижаною оцтовою кислотою з додаванням сірчаної кислоти), нагрівали протягом 10 хв на киплячій водянній бані, потім охолоджували. При цьому відбувалося забарвлення розчину в синій колір. На фотоелектроколориметрі проводили ви-

Таблиця 1

**Вплив уроксалину на вміст ДНК і РНК у гомогенаті серцевого м'язу щурів при аліментарній білковій дистрофії (n = 30)**

Показники	День експерименту		
	3	7	14
Аліментарна білкова дистрофія (контроль)			
РНК, нг/г тканини	1,51±0,03	3,22±0,09	5,87±0,24
ДНК, нг/г тканини	6,51±0,12	5,04±0,13	8,78±0,43
РНК/ДНК	0,23±0,01	0,64±0,02	0,67±0,02
Загальний білок, мг/г	50,1±0,91	36,0±1,4	46,2±1,9
Аліментарна білкова дистрофія + уроксалин у дозі 10,7 мг/кг			
РНК, нг/г тканини	5,17±0,22*	9,45±0,39*	10,12±0,75*
ДНК, нг/г тканини	8,19±0,20*	13,35±0,87*	12,61±0,84*
РНК/ДНК	0,63±0,03*	0,71±0,037*	0,80±0,02*
Загальний білок, мг/г	62,0±2,7*	85,2±1,9	91,0±3,1*
Аліментарна білкова дистрофія + калію оротат у дозі 28 мг/кг			
РНК, нг/г тканини	4,07±0,35*	8,48±0,34*	9,00±0,40*
ДНК, нг/г тканини	7,50±0,23*	11,34±0,90*	12,15±1,00
РНК/ДНК	0,54±0,02*	0,75±0,04*	0,74±0,02*
Загальний білок, мг/г	68,4±2,1*	79,0±1,9*	85,6±3,2*

Примітка. \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з контролем.

мірювання поглинання розчину з помаранчевим світлофільтром (595 нм) проти контролю (розчин Дише). Вміст визначали за калібрувальною кривою, складеною за стандартними розчинами. Робота з тваринами проводилась згідно з Міжнародними вимогами про гуманне ставлення до тварин та дотриманням вимог директиви 86/609/ЕЕС з питань захисту тварин, а також з "Методическими рекомендаціями по виведенню лабораторних живих тварин з експеримента" (Київ, 1986), а всі маніпуляції, які можуть завдати болю, були проведені під етамінал-натрієвим наркозом [2, 6, 7]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету статистичного аналізу елек-

тронних таблиць Excel [9] та за допомогою програми "Statgraphics v.3.0". Вірогідність різниць між середніми значеннями визначали за критерієм t-Стьюдента [11].

**Результати та їх обговорення**

Згідно з отриманими результатами (табл. 1) встановлено, що кількість ДНК в гомогенаті серцевого м'язу у тварин основної групи (уроксалин) збільшувалась протягом першого тижня. При цьому в контрольній групі значне збільшення ДНК відбувалося тільки на 7-му добу і було в 1,4 рази нижче, ніж в основній групі. У групі порівняння (калію оротат) також з перших днів спостерігалось збільшення кількості ДНК,

що відповідає даним літератури [3, 7], однак процес проходив повільніше. На 7 добу показник ДНК у групі порівняння був нижче, ніж в основній групі.

Показники біосинтетичної активності в гомогенаті серцевого м'язу оцінювали по кількості РНК. Протягом всього експерименту в усіх дослідних групах спостерігали рівномірне збільшення кількості РНК. Вже на 3 добу лікування рівень РНК у тварин, які отримували уроксалин, був вище, ніж у контролі у 3 рази. Найвищий показник РНК виявили на 7 добу лікування. В основній групі він складав 10,12 нг/г тканини, що у 1,7 рази більше, ніж у контролі та в 1,12 рази більше, ніж у групі порівняння ( $p < 0,05$ ).

Збільшення кількості білка в 1,5 рази при лікуванні уроксалином і калію оротатом свідчило про інтенсифікацію пластичних процесів у серцевому м'язі і відповідало змінам усіх вивчених показників [4, 5, 12, 14].

Для підтвердження анаболічної дії уроксалину на вміст ДНК і РНК нами було проведено також визначення оптичної щільності цитоплазми кардіоміоцитів на РНК у тварин з аліментарною білковою дистрофією на 7-у добу лікування у цих же групах.

Аналіз результатів проведеного дослідження (табл. 2) показав, що уроксалин має високу біосинтетичну активність, котра на 17,5% ( $p < 0,05$ ) вище, ніж у групі контролю і знаходиться на тому ж рівні, що і в групі порівняння, де застосовувався калію оротат.

Проведені експерименти свідчать про те, що уроксалин стимулює процеси синтезу нуклеїнових кислот і за механізмом анаболічної дії аналогічний оротату калію [8, 13, 14].

Таблиця 2

**Оптична щільність цитоплазми кардіоміоцитів (n = 30)**

Показник	Групи тварин		
	аліментарна білкова дистрофія без лікування	аліментарна білкова дистрофія + калію оротат	аліментарна білкова дистрофія + уроксалин
Оптична щільність, ум. од.	0,080±0,002*	0,092±0,005*	0,094±0,004*

Примітка. \* —  $p < 0,05$  відносно аліментарної білкової дистрофії без лікування.

## ВИСНОВКИ

Уроксалін у дозі 10,7 мг/кг маси тіла проявляє стимулюючий

вплив на вміст ДНК і РНК у серцевому м'язі щурів при аліментарній білкової дистрофії. Оптична

щільність кардіоміоцитів на РНК збільшується на 17,5% порівняно з показниками контролю.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Белякова Т.Л. // *Лекарства — человеку.* — 2000. — Т. XVI, №1-2. — С. 368-370.
2. Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. та ін. *Методи клінічних та експериментальних досліджень у медицині / За ред. І.П.Кайдашева.* — Полтава, 2003. — 320 с.
3. Васильченко Е.А., Хромова Т.О., Васильева Л.Н., Измайлова И.К. Об экспериментальных моделях нарушений белкового обмена для поиска и изучения средств анаболического действия // *Оценка фармакологической активности химических соединений: Всесоюз. науч. конф., 15-19 нояб. 1989 г.* — М., 1989. — С. 58-61.
4. Губський Ю.І. *Біологічна хімія.* — К.-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. — 505 с.
5. Дейнека Н.Ф., Ихненко Р.И. // *Врачебное дело.* — 1998. — №4. — С. 26-29.
6. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. НАН України О.В.Стефанова.* — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
7. *Експериментальне вивчення нових анаболічних засобів: Метод. рекомендації / Укл. Л.В.Яковлева, С.М.Марчишин, Ю.Б.Лар'яновська та ін.* — К.: Авіценна, 2007. — 32 с.
8. Комаров А.А., Крапивкин Б.А. // *Сб. науч. тр. ВНИКИ.* — М., 2006. — С. 107-121; 243-244.
9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.А. *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.* — К.: МОРИОН, 2001. — 320 с.
10. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. *Большой практикум по углеводному и липидному обмену.* — Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1995. — 158 с.
11. Сернов Л.Н., Гацура В.В. *Элементы экспериментальной фармакологии.* — М.: Медицина, 2000. — 352 с.
12. Тодоров И.Н., Митрохин Ю.И., Ефремова О.И., Сидоренко Л.И. // *Хим.-фармац. журн.* — 2000. — Т. 39, №9. — С. 24-26.
13. Benaroudj N., Lee D.H., Goldberg A.L. // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 24261-24267.
14. Medras M., Jozkow P. // *Endocrinol. Pol.* — 2009. — Vol. 60, №3. — P. 204-209.
15. Mostafa N., Uludadh H., Dederich D. // *Arch. Oral. Biol.* — 2009. — Vol. 54, №8. — P. 743-748.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,  
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-66.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 24.02.2011 р.