



Обмен полиаминов в миокарде при моделировании регенераторно-пластической сердечной недостаточности у крыс

Д.П. Хлопонин¹, Ю.С. Макляков¹, Ю.Н. Кротова¹, В.Н. Каркищенко²

¹ – Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

² – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Контактная информация: д.м.н., профессор Хлопонин Дмитрий Петрович
khloponin@list.ru

Эндогенные полиамины (путресцин, спермидин и спермин) играют важную роль в персистирующем повреждении миокарда при регенераторно-пластической хронической сердечной недостаточности (СН). Одним из возможных механизмов индуцируемой β -адреноблокаторами кардиопротекции при лечении СН является их влияние на метаболизм полиаминов. Установлено, что на фоне кардиоселективного β 1-адреноблокатора небиволола наблюдается частичное восстановление нарушенного при адриамицин-индуцированной регенераторно-пластической СН баланса уровней путресцина, спермидина и спермина в миокарде крыс.

Ключевые слова: полиамины, небиволол, β -адреноблокатор, адриамицин, сердечная недостаточность, апоптоз.

Эндогенные полиамины, к которым относятся путресцин, спермин и спермидин (а также зачастую агматин), представляют собой группу биологически активных веществ, имеющих большое значение для процессов роста клеток, их пролиферации, дифференцировки и гибели, а также клеточной адаптации к действию различных стрессорных и аверсивных факторов [3, 5]. За последние годы появилось большое число литературных публикаций, посвященных роли дисбаланса полиаминов в патогенезе самых разных заболеваний и патологических состояний у человека и животных, особенно онко-

логического, неврологического, нефрологического и гастроэнтерологического характера [2, 5, 7]. Однако, о месте нарушений обмена полиаминов в сердечно-сосудистой патологии известно очень мало. Лишь в последние 10-15 лет в свет вышел ряд работ, посвященных нарушениям метаболизма в системе полиаминов в условиях острых ишемических и ишемически-реперфузионных повреждений сердца [4, 11]. Изучением обмена полиаминов при хронической кардиоваскулярной патологии, в частности хронической сердечной недостаточности (СН), по нашим данным, никто предметно не занимался. Тем более,

нет в литературе данных относительно возможного влияния на эти процессы лекарственных средств. А между тем есть основания полагать, что благоприятное влияние таких препаратов выбора для лечения СН как ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента и β -адреноблокаторы (БАБ) может быть — по крайней мере, частично — связано с их влиянием на кардиальный метаболизм полиаминов.

Материалы и методы

Исследования проводились на 68 белых нелинейных крысах-самцах массой 150-190 г (на начало эксперимента), полученных из филиала «Андреевка» НЦБМТ РАМН. Животные содержались в стандартных условиях вивария (при естественном освещении, t воздуха +18-20°C и влажности 50-60%) в пластиковых клетках размером 55×45×15 см, с подстилкой из древесных опилок, по 4-6 особей в клетке. Крысы потребляли гранулированный комбикорм (производитель ООО «Лабораторснаб») и воду *ad libitum* в поилках объемом 200 мл. В эксперимент животных забирали после 7 дней карантина.

Регенераторно-пластическую СН у животных моделировали в соответствии с общепринятым протоколом [9] путем дробного (6-кратного) в течение 2 недель введения адриамицина (АДР) («Доксорубин-Лэнс», «Лэнс-Фарм», Россия) в курсовой дозе 15 мг/кг внутривентриально (АДР-группа, $n=12$). Раствор АДР готовили согласно инструкции фирмы-производителя, растворяя содержимое 1 флакона (10 мг) в 5 мл растворителя (0,9% изотонического раствора NaCl).

Животные, служившие в качестве контроля I уровня (K_0 -группа, $n=10$),

вместо АДР в аналогичном режиме (6-кратно в течение 2 недель) и в сравнимом объеме получали внутривентриальные инъекции 0,9% изотонического раствора NaCl.

Основная (опытная) группа животных была разделена на 3 подгруппы (H_1 , H_2 и H_3 , по 12 крыс в каждой), в течение всего срока наблюдения ежедневно получавшие параллельно с АДР кардиоселективный БАБ небиволол (Н) («Небилет», Berlin-Chemie AG, Германия) в суточных дозах 1; 0,1 и 10 мг/кг *per os*, соответственно. Введение Н начинали за 2-е суток до 1 инъекции АДР, производили ежедневно и прекращали за 24 ч до умерщвления животных. Забор материала (миокарда левого желудочка) производили на 8-9 неделях эксперимента.

В группе контроля II уровня K_H крысам ($n=10$) АДР не вводили, и они получали только Н в режиме, аналогичном группе H_1 (в дозе 1 мг/кг/сут *per os*).

Определение уровней путресцина, спермидина и спермина в гомогенатах миокарда производили методом ионно-обменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) с обращенной фазой [6], с предварительной дериватизацией аминов с о-фталевым диальдегидом, использованием натрия додецилсульфата как ионно-обменного и растворяющего градиента. HPLC-аппарат состоял из жидкостного хроматографа ThermoQuest, Inc. Spectra System LC (Италия), колонки Luna C18, флуоресцентного детектора 420-AC и основной рабочей станции (Waters Inc, Milford, MA, USA). Измерение концентрации полиаминов производили количественно на основе их стандартов.

Статистическую обработку полученных результатов исследований

проводили с использованием общепринятых методов параметрической (t-критерий Стьюдента) и непараметрической (критерий Mann–Whitney (U)) статистики при помощи пакета статистических программ Statistica 6.0 (Statsoft, USA).

Результаты и их обсуждение

На модели регенераторно-пластической СН у крыс (группа АДР) было зафиксировано резкое и специфическое изменение содержания и баланса эндогенных полиаминов (табл.) по сравнению с группой контроля (K₀).

Так, концентрация путресцина в ткани миокарда резко (на 45,2%) повышалась (с 3,315±0,93 до 6,05±1,14 нмоль/г ткани, p<0,05), в то время как уровни спермидина и спермина, наоборот, явно и достоверно снижались – на 56% (с 471,11±115,6 до 206,96±68,77 нмоль/г ткани; p<0,05) и 44% (с 357,55±101,13 до 200,34±96,65 нмоль/г ткани; p<0,05) соответственно.

Применение на фоне кардиотоксических доз АДР высокоселективного β1-адреноблокатора небиволола во всех 3-х используемых дозах характеризовалось тенденцией к восстановлению нарушенного баланса между миокардиальным содержанием отдельных полиаминов. Так, в суточной дозе 1 мг/кг *per os* (приблизительно соответствующей среднетерапевтической дозе, используемой при фармакотерапии хронической СН у человека) Н приводил к достоверным сдвигам уровней всех анализируемых полиаминов. Концентрация путресцина уменьшалась более чем на четверть (с 6,05±1,14 до 4,52±1,15 нмоль/г; p<0,05) в отличие от уровней спермидина и спермина, достоверно повышавшихся почти в 2 (с 206,96±68,77 до 380,92±89,04 нмоль/г; p<0,01) и 1,5 раза (с 200,34±96,65 до 294,6±77,09 нмоль/г; p<0,05) соответственно.

Прием на порядок более низкой дозы Н (0,1 мг/кг *per os* в сутки) в группе Н2 приводил к качественно сходным изме-

нениям, хотя количественно полученные данные достоверными не являлись. Снижение содержания путресцина составило всего около 15%, а повышение концентрации спермидина и спермина – лишь 12,3% и 10,7% соответственно.

Показатели кардиальных уровней полиаминов, зарегистрированные в группе Н3, получавшей максимальную из вводимых дозу Н (10 мг/кг *per os* в сутки), практически не отличались от таковых в группе Н₁. Они также были достоверны по сравнению с группой АДР, однако 10-кратное увеличение дозы Н не приводило к сопоставимому (или хотя бы в той или иной степени близкому к таковому) усилению эффекта.

Полученные в ходе нашей работы результаты динамики концентраций полиаминов в миокарде крыс при АДР-индуцированной регенераторно-пластической СН, на наш взгляд, объяснимы с позиций дуалистичной активности этих биологически активных веществ и их частую дифференцированного влияния на процессы клеточного роста и клеточной гибели, в первую очередь, апоптоза. Они вполне согласуются с данными литературы о том, что истощение запасов спермидина и спермина может провоцировать торможение клеточного роста и индуцировать апоптоз [10]. Причем, если проапоптотическую активность полиаминов связывают, главным образом, с путресцином, то в качестве активаторов клеточного роста чаще всего фигурируют т.н. высшие полиамины – спермидин и спермин.

Также при интерпретации полученных результатов следует учитывать наличие в метаболизме полиаминов в сердечной мышечной ткани (как и в прочих органах и тканях) человека такой специфичной черты как «цикл ин-

терконверсии», в ходе которого происходит взаимопревращение полиаминов друг в друга: путресцин вначале преобразуется в спермидин, а последний далее – в спермин за счет последовательного присоединения пропиламиновых групп в ходе реакций, катализируемых, спермидин- и сперминсинтазой соответственно.

Примечательно, что этот цикл предусматривает и «ретроконверсию» (обратное преобразование спермина и спермидина в путресцин), в процессе которой высшие полиамины вначале под влиянием спермидин/спермин-ацетилтрансферазы ацетируются, а затем их ацетилированные формы под действием полиаминоксидазы преобразуются в путресцин. Принципиально важно, что в ходе ретроконверсии высших полиаминов происходит образование больших количеств и накопление в тканях мощных индукторов повреждения и апоптоза клеток перекиси водорода (H₂O₂) и 3-амино-пропиональдегида [8].

Таким образом, можно предполагать, что в условиях экспериментальной СН антрациклинового генеза у крыс происходит формирование дисбаланса между содержанием низшего (путресцина) и высших (спермидина со спермином) полиаминов в миокарде. В итоге сдвиг равновесия в пользу путресцина приводит к повышению его уровня в сердечномышечной ткани и накоплению в миокарде токсических метаболитов, индуцирующих апоптоз кардиомиоцитов, что вполне согласуется с данными, в том числе и продемонстрированными нами [1], о принципиальной роли апоптотической клеточной гибели в патогенезе адриамициновой кардиотоксичности. На фоне же действия БАБ небиволола

Таблица

Содержание полиаминов в гомогенатах сердечной мышечной ткани крыс различных экспериментальных групп

№	Группа	Группа расшифровка	Путресцин, нмоль/г	Спермидин, нмоль/г	Спермин, нмоль/г
1	K ⁰	контроль	3,31±0,53 ²	471,11±35,6 ²	357,55±31,1 ²
2	АДР	адриамицин	6,05±0,64 ¹	206,96±28,77 ¹	200,34±26,65 ¹
3	K _n	контроль (небиволол)	3,93±0,58	564,03±46,57 ²	316,16±37,8 ²
4	H ₁	небиволол I	4,52±0,65	380,92±39,04 ¹²	294,6±27,1 ²
5	H ₂	небиволол II	5,13±0,56	235,87±33,17 ¹	224,35±27,5 ¹
6	H ₃	небиволол III	4,16±0,47	396,72±52,52 ¹²	298,24±20,3 ²

Примечание: Данные в таблице представлены в виде M±m для всех групп животных:

¹ – достоверные отличия от группы контроля K₀ (p<0,05);

² – достоверные отличия от группы АДР (p<0,05).

вышеописанные негативные сдвиги в содержании полиаминов подавляются и, более того, наблюдается частичная реверсия (с тенденцией, но не полноценным восстановлением) нормальных уровней путресцина, с одной стороны, и спермидина со спермином, с другой.

Выводы

Длительное курсовое применение высококардиоселективного БАБ небиволола на фоне регенераторно-пластической сердечной недостаточности адриамицинового генеза у крыс обуславливает частичное восстановление нарушенного баланса между концентрациями путресцина и высших полиаминов (спермидина со спермином) в миокарде крыс. Как следствие этого, небиволол-индуцируемое повышение уровней спермидина со спермином, сдерживающих апоптогенный потенциал путресцина и стимулирующих процессы клеточной пролиферации, приводит к торможению апоптотической гибели клеток миокарда и, по всей видимости, может быть расценено в качестве одного из компонентов механизма реализации кардиопротекторной активности БАБ в целом.

Список литературы

1. **Хлопонин Д.П.** Гистохимический анализ влияния β -адреноблокаторов III поколения на интенсивность апоптоза в миокарде крыс при моделировании сердечной недостаточности // Психофарм. и биол. наркол. 2007. Т. 7 (спец.вып., ч. 2). с. 2-1999.
2. **Adibhatla R.M., Hatcher J.F., Sailor K.** Polyamines and central nervous system injury: spermine and spermidine decrease following transient focal cerebral ischemia in spontaneously

hypertensive rats // Brain Res. 2002. Vol. 938. P. 81-86.

3. **Gugliucci A.** Polyamines as clinical laboratory tools // Clin. Chim. Acta. 2004. Vol. 1-2. P. 23-35.
4. **Han L., Xu C., Jiang C., Li H., Zhang W., Zhao Y., Zhang L., Zhang Y., Zhao W., Yang B.** Effects of polyamines on apoptosis induced by simulated ischemia / reperfusion injury in cultured neonatal rat cardiomyocytes // Cell Biol. Internat. 2007. Vol. 31. № 11. P. 1345-1352.
5. **Igarashi K.** Physiological functions of polyamines and regulation of polyamine content in cells // Yakugaku Zasshi. 2006. Vol. 126. № 7. P. 455-471.
6. **Kwon H., Wu G., Bazer F.W., Spencer T.E.** Developmental changes in polyamine levels and synthesis in the ovine conceptus biology of reproduction // Biol. Reproduct. 2003. Vol. 69. P. 1626-1634.
7. **Moinard C., Cynober L., De Bandt J.-P.** Polyamines: metabolism & implications in human diseases // Clin. Nutr. 2005. Vol. 24. P. 184-197.
8. **Niiranen K., Pietila M., Pirttila T.J., Jarvinen A., Halmekyto M., Korhonen V.-P., Keinanen T.A., Alhonen L., Janne J.** Targeted Disruption of Spermidine/Spermine N1-Acetyltransferase Gene in Mouse Embryonic Stem Cells. Effects on Polyamine Homeostasis & Sensitivity to Polyamine Analogues // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 25323-25328.

9. **Siveski-Iliskovic N., Kaul N. & Singal P.K.** Probuocol promotes endogenous antioxidants and provides protection against adriamycin-induced cardiomyopathy in rats // Circulation. 1994. Vol. 89. P. 2829-2835.
10. **Wang Z., Zahedi K., Barone S., Tehrani K., Rabb H., Matlin K., Casero R.A., Soleimani M.** Overexpression of SSAT in kidney cells recapitulates various phenotypic aspects of kidney

ischemia-reperfusion injury // J. Am. Soc. Nephrol. 2004. Vol. 15. P. 1844-1852.

11. **Zhao Y.J., Xu C.Q., Zhang W.H., Zhang L., Bian S.L., Huang Q., Sun H.L., Li Q.F., Zhang Y.Q., Tian Y., Wang R., Yang B.F., Li W.M.** Role of polyamines in myocardial ischemia/reperfusion injury and their interactions with nitric oxide // Eur. J. Pharmacol. 2007. Vol. 562. № 3. P. 236-246.

Nebivolol influence on myocardial polyamines metabolism in a rat model of regenerative & plastic heart failure

D.P. Khloponin, Yu.S. Maklyakov, Yu.N. Krotova, V.N. Karkischenko

Endogenous polyamines (putrescine, spermidine, & spermine) plays an important role in the process of ongoing myocardial injury in the regenerative & plastic heart failure. One of the possible mechanisms of β -blockers induced cardioprotection in the failing heart is their modulation effect on the polyamines metabolism. Cardioselective β 1-blocker nebivolol is shown to partially normalize an essentially disturbed myocardial level of putrescine, spermidine & spermine in adriamycin-induced regenerative & plastic heart failure in rats.

Key words: polyamines, nebivolol, β -blocker, adriamycin, heart failure, apoptosis.