

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

КОЭНЗИМ Q₁₀, ВВЕДЕННЫЙ ОДНОКРАТНО ВНУТРИВЕННО, ЗАЩИЩАЕТ МИОКАРД ОТ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

А. В. Иванов, Е. А. Городецкая, Е. И. Каленикова, О. С. Медведев¹

На модели ишемии-реперфузии миокарда крыс Вистар изучали эффекты коэнзима Q₁₀ (CoQ₁₀), введенного внутривенно (30 мг/кг) за 30 мин до окклюзии коронарной артерии. У животных, получивших CoQ₁₀, после 30 мин ишемии и 120 мин реперфузии наблюдалось ограничение зоны некроза на 35 % ($p < 0,01$), снижение количества эпизодов и длительности реперфузионных аритмий, повышение содержания CoQ₁₀ в левом желудочке на 210 % ($p < 0,01$) относительно контрольных крыс. Выявлена отрицательная корреляционная зависимость между содержанием CoQ₁₀ в миокарде и размером зоны некроза ($r = -0,774, p = 0,0002$). Полученные данные свидетельствуют о кардипротекторной эффективности CoQ₁₀, введенного внутривенно перед ишемией-реперфузией миокарда.

Ключевые слова: коэнзим Q₁₀; кардипротекторное действие; внутривенное введение; ишемия-реперфузия миокарда

ВВЕДЕНИЕ

Инфаркт миокарда приводит к необратимой потере кардиомиоцитов. Восстановление коронарного кровотока способствует ограничению некроза ишемизированного миокарда. В то же время реперфузия оказывает и повреждающее действие, провоцируя избыточную генерацию активных форм кислорода и окислительный стресс, внутриклеточную кальциевую перегрузку, быстрое изменение значений pH и воспаление [4]. Усилить защиту миокарда от ишемии возможно с помощью кардипротекторов [5].

Известно, что коэнзим Q₁₀ (CoQ₁₀) защищает миокард от ишемического повреждения, действуя как антиоксидант, переносчик электронов в цепи окислительного фосфорилирования, как инактиватор креатинкиназы во время реперфузии, уменьшающий выход креатинкиназы из ишемизированного миокарда. Одним из возможных механизмов кардипротекторного действия CoQ₁₀ может быть ингибирование временных пор в мембране митохондрий, открывающихся под действием избытка активных форм кислорода [1–3].

CoQ₁₀ при длительном приеме внутрь рекомендован для профилактики и в комплексной терапии ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, сердечной недостаточности, гиперлипидемии [8]. Во время операций на открытом сердце и для ограничения

ишемического — реперфузионного повреждения (например, при восстановлении коронарного кровотока при инфаркте) необходима быстрая доставка CoQ₁₀ в клетки миокарда. Мгновенное повышение концентрации CoQ₁₀ в крови с последующим быстрым его поступлением в миокард возможно при внутривенном введении.

Целью данной работы была оценка кардипротекторной эффективности предварительного однократного внутривенного введения CoQ₁₀ перед ишемией-реперфузией миокарда крысы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на наркотизированных крысах-самцах линии Вистар (пентобарбитал натрия, 45 мг/кг, внутривенно).

Возможность повышения содержания CoQ₁₀ в миокарде крысы через 30 мин после однократного внутривенного введения CoQ₁₀. Животным через полиэтиленовый катетер P10/P50 в бедренной вене вводили либо физиологический раствор (физ. р-р, 0,9 % NaCl, 1 мл/кг) — группа “контроль” ($n = 7$), либо раствор солиобилизованного CoQ₁₀, 30 мг/кг (“Кудесан раствор”, Аквион, Россия) — группа “CoQ₁₀” ($n = 5$). Через 30 мин после инъекции животных умерщвляли внутривенным введением 3 М KCl (2 мл), сердца извлекали и оставляли до ВЭЖХ анализа при -20°C .

Оценка кардипротекторной эффективности предварительного внутривенного введения CoQ₁₀ на модели ишемии-реперфузии. Операции проводили в стерильных условиях при постоянной температуре тела животного ($37,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Использована модель ишемии-реперфузии, вызванная временной окклюзией (30 мин) левой коронарной артерии с последующей

¹ Факультет фундаментальной медицины, кафедра фармакологии (зав. — проф. О. С. Медведев) Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, кафедра фармации (зав. — Е. И. Каленикова), Российский кардиологический научно-производственный комплекс, 119192, Москва, Ломоносовский проспект, 31, корп. 5.

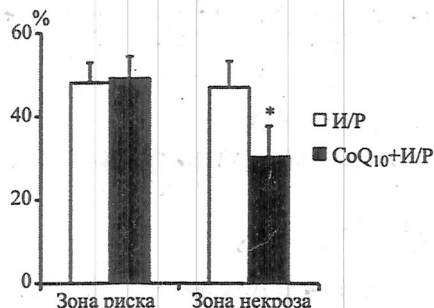


Рис. 1. Размер зоны риска и зоны некроза у крыс после однократного внутривенного введения физиологического раствора ("И/Р") или препарата CoQ₁₀ ("CoQ₁₀ + И/Р") за 30 мин до ишемии-реперфузии. * — $p < 0,01$ в сравнении с группой "И/Р".

реперфузией (120 мин). За 30 мин до окклюзии крысам внутривенно вводили физиологический раствор (1 мл/кг) в группе "И/Р" ($n = 11$), CoQ₁₀ (30 мг/кг) в составе препарата "Кудесан раствор" в группе "CoQ₁₀ + И/Р" ($n = 10$). В ходе экспериментов у животных регистрировали ЭКГ в I отведении ("MacLab", "ADInstruments", Австралия). Для определения зоны риска по окончании реперфузии коронарную артерию повторно перевязывали и вводили внутривенно взвесь синего Эванса. Затем животных умерщвляли внутривенным введением 3 М KCl (2 мл), сердца извлекали, отделяли левый желудочек (ЛЖ) и оставляли до ВЭЖХ анализа при -20°C .

Оценивали величину зоны некроза ЛЖ, частоту эпизодов аритмий и их длительность, определяли содержание CoQ₁₀ в миокарде ЛЖ.

Степень повреждения миокарда оценивали с помощью методики "двойного окрашивания". Окрашенный синим Эванса ЛЖ разделяли по оси от верхушки до основания на 5 продольных срезов и помещали при 37°C на 15 мин в 1% раствор трифенилтетразолия хлорида в фосфатном буфере (рН 7,4). Определяли размер зоны риска как процентное отношение общей площади ишемизированных сегментов к общей площади срезов и размер зоны некроза как процентное отношение общей площади некроза к общей площади ишемизированных сегментов.

Анализ аритмий. Анализ частоты возникновения и тяжести желудочковых тахикардий (ЖТА) проводили в соответствии с международными рекомендациями Lambeth Conventions [14] по критериям: 1) наличие эпизодов ЖТА (число животных, у которых развились нарушения ритма); 2) число эпизодов ЖТА у одного животного; 3) время наступления первого эпизода ЖТА; 4) суммарная продолжительность эпизодов ЖТА у одного животного (в секундах); 5) число животных, у которых развились летальные ЖТА.

Количественный анализ CoQ₁₀ в миокарде проводили методом ВЭЖХ с электрохимическим детектированием по методике [6]. Все данные представлены в виде "среднее \pm стандартное отклонение". Статистическую достоверность различий оценивали по крите-

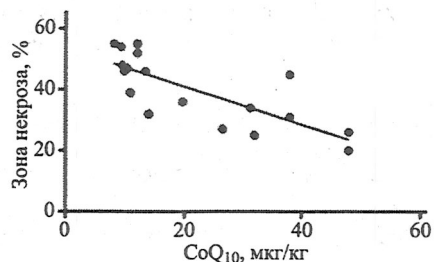


Рис. 2. Взаимосвязь между содержанием CoQ₁₀ в миокарде левого желудочка и размером зоны некроза у крыс после 30 мин ишемии и 120 мин реперфузии ($r = -0,774$, $p = 0,0002$).

рию Манна-Уитни с помощью программного пакета Statistica 6.0. Частоту возникновения нарушений ритма сравнивали с помощью теста Фишера. Значения $p < 0,05$ рассматривали как достоверные.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Возможность повышения содержания CoQ₁₀ в миокарде крысы через 30 мин после однократного внутривенного введения CoQ₁₀. Однократное внутривенное введение CoQ₁₀ привело к повышению его количества в интактном миокарде через 30 мин на 18,5% ($p < 0,05$) относительно контрольных животных.

Ранее было показано, что ежедневное введение CoQ₁₀ внутрь в течение 3 недель приводит к пополнению его миокардиальных уровней на 20–30%. Этого прироста достаточно для ограничения последующего ишемического повреждения [6]. В данной работе выявлено, что через 30 мин после однократного внутривенного введения CoQ₁₀ наблюдается сходное повышение его содержания в миокарде. Этот факт обусловил выбор момента введения CoQ₁₀ в серии экспериментов с ишемией-реперфузией.

Оценка кардиопротекторной эффективности предварительного внутривенного введения CoQ₁₀ на модели ишемии-реперфузии. При равных величинах зоны риска в двух экспериментальных группах размер зоны некроза в группе "И/Р" составил $47,1 \pm 6,3\%$, а в группе "CoQ₁₀ + И/Р" — $30,5 \pm 7,2\%$ (рис. 1).

В период ишемии животные двух групп не различались по характеристикам аритмий. В начале реперфузии аритмии возникли у 8 из 9 животных в группе "И/Р" и у 2 из 9 животных в группе "CoQ₁₀ + И/Р". В группе "CoQ₁₀ + И/Р" реперфузионные аритмии возникали позже (через 40 ± 8 с от начала реперфузии в группе "CoQ₁₀ + И/Р" и через 14 ± 13 с в группе "И/Р") и длились меньше (26 ± 14 с в группе "CoQ₁₀ + И/Р" и 52 ± 17 с в группе "И/Р"). Статистическое сравнение временных характеристик ЖТА не проводили, т.к. ЖТА в группе "CoQ₁₀ + И/Р" наблюдались только у двух крыс.

Выявленный противоаритмический эффект CoQ₁₀ в период реперфузии (уменьшение частоты возникнове-

ния и длительности аритмий) и отсутствие различий в период ишемии может быть признаком того, что CoQ₁₀ ограничивает именно реперфузионное повреждение миокарда.

В результате внутривенного введения препарата CoQ₁₀ произошло повышение его содержания в миокарде. Через 180 мин после введения уровень CoQ₁₀ в миокарде ЛЖ был на 210 % выше ($p < 0,01$), чем у контрольных крыс. Анализ соотношения размера зоны некроза и содержания CoQ₁₀ в миокарде животных из групп "И/Р" и "CoQ₁₀ + И/Р" выявил, что большему количеству CoQ₁₀ в миокарде соответствует меньший размер зоны некроза ($r = -0,774$, $p < 0,001$), рис. 2.

Немногочисленные экспериментальные исследования показали, что внутрикоронарное или внутривенное введение липосомальных форм CoQ₁₀ повышает уровни CoQ₁₀ в миокарде, ограничивает зону ишемического-реперфузионного повреждения и поддерживает функциональное состояние сердечной мышцы [10, 13, 15]. В данной работе продемонстрировано, что внутривенное введение раствора солубилизованного CoQ₁₀ защищает миокард от последующей ишемии-реперфузии не менее эффективно, чем липосомальные формы, причем достигнутое повышение миокардиальных уровней CoQ₁₀ приводит к пропорциональному снижению зоны некроза. Взаимосвязь между тканевыми уровнями CoQ₁₀ и выраженностью сердечно-сосудистой патологии выявлена и в клинике [7, 8, 11, 12]. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью сниженный уровень CoQ₁₀ тесно коррелирует со смертностью [9].

ВЫВОД

Однократное предварительное внутривенное введение препарата CoQ₁₀ обеспечивает быстрое повышение

его уровня в сердечной мышце, что сопровождается ограничением ишемического-реперфузионного повреждения миокарда: снижением зоны некроза, количества эпизодов и длительности реперфузионных аритмий.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №12-04-01246-а и РФФИ №11-04-00894а.

ЛИТЕРАТУРА

1. M. Bentinger, M. Tekle, G. Dallner, *Biochemical and biophysical research communications*, 396, 74 – 79 (2010).
2. H. N. Bhagavan, R. K. Chopra, *Free Radic Res*, 40, 445 – 453 (2006).
3. F. L. Crane, *J. Am. Coll Nutr.*, 20, 591 – 598 (2001).
4. G. J. Gross, J. A. Auchampach, *Journal of molecular and cellular cardiology*, 42, 12 – 18 (2007).
5. A. P. Halestrap, P. Pasdois, *Biochim Biophys Acta*, 1787, 1402 – 1415 (2009).
6. E. I. Kalenikova, E. A. Gorodetskaya, E. G. Kolokolchikova, et al., *Biochemistry Biokhimiia*, 72, 332 – 338 (2007).
7. A. Kumar, H. Kaur, P. Devi, V. Mohan, *Pharmacol Ther*, 124, 259 – 268 (2009).
8. G. P. Littarru, L. Tiano, *Nutrition*, 26, 250 – 254 (2010).
9. S. L. Molyneux, C. M. Florkowski, P. M. George, et al., *J. Am. Coll Cardiol.*, 52, 1435 – 1441 (2008).
10. K. Niibori, K. P. Wroblewski, H. Yokoyama, et al., *Biofactors*, 9, 307 – 313 (1999).
11. S. Pepe, S. F. Marasco, S. J. Haas, et al., *Mitochondrion*, 7 Suppl, S154 – 167 (2007).
12. B. Sarter, *J. Cardiovasc. Nurs*, 16, 9 – 20 (2002).
13. D. D. Verma, W. C. Hartner, V. Thakkar, et al., *Pharm Res*, 24, 2131 – 2137 (2007).
14. M. J. Walker, M. J. Curtis, D. J. Hearse, et al., *Cardiovasc. Res.*, 22, 447 – 455 (1988).
15. G. J. Whitman, K. Niibori, H. Yokoyama, et al., *Mol Aspects Med*, 18 Suppl, S195 – 203 (1997).

Поступила 18.10.12

COENZYME Q₁₀ SINGLE INTRAVENOUS INFUSION PROTECTS RAT MYOCARDIUM AGAINST SUBSEQUENT ISCHEMIA/REPERFUSION

A. V. Ivanov, E. A. Gorodetskaya, E. I. Kalenikova, and O. S. Medvedev

Department of Fundamental Medicine, Moscow State University, Lomonosovskii pr. 31/5, Moscow, 119192, Russia;

Russian Cardiology Research and Production Complex, Ministry of Public Health of the Russian Federation, ul. Tret'ya Cherepkovskaya 15a, Moscow, 121552, Russia

Cardioprotective effects of coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) injected intravenously 30 min before coronary artery occlusion were assessed on the model of myocardial ischemia/reperfusion in Wistar rats. Rats treated with CoQ₁₀ after 30 min of ischemia and 120 min of reperfusion exhibited smaller (by 35 %, $p < 0.01$) size of irreversibly damaged myocardium, shorter duration and decreased number of arrhythmias during reperfusion, and increased content of myocardial CoQ₁₀ (by 210%, $p < 0.01$) as compared to saline-treated rats. Increased CoQ₁₀ levels in myocardium were accompanied by smaller size of damaged myocardium ($r = -0.77$, $p = 0.0002$). Thus, there is evidence of the cardioprotective effect of CoQ₁₀ injected intravenously before myocardial ischemia/reperfusion.

Keywords: coenzyme Q₁₀; cardioprotective effect; intravenous injection; myocardial ischemia/reperfusion

