

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-4-8-11

ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИННОВАЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ УБИХИНОЛА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

О. Ю. Куляк¹, Е. А. Городецкая¹, Е. И. Каленикова¹,
М. Н. Макарова², О. Н. Пожарицкая³, О. С. Медведев¹

На экспериментальной модели инфаркта миокарда у крыс изучали кардиопротекторную эффективность инновационной лекарственной формы препарата убихинола. По оценке, проведенной на 21 сут, однократное внутривенное введение препарата (10 мг/кг) через 10 мин после окклюзии коронарной артерии значительно ограничивало величину аневризмы (на 18,36 %, $p < 0,05$) и предотвращало развитие гипертрофии миокарда левого желудочка. У группы животных, получавших препарат, выявлена обратная корреляционная зависимость между содержанием CoQ_{10} в миокарде и толщиной межжелудочковой перегородки ($r = -0,6716$), подчеркивающая его роль в ограничении постинфарктных повреждений.

Ключевые слова: коэнзим Q_{10} ; убихинол; кардиопротекция; ишемия миокарда; ВЭЖХ-ЭХ.

ВВЕДЕНИЕ

Многие заболевания сердечно-сосудистой системы связаны с окислительно-восстановительным дисбалансом и сопровождаются снижением уровня эндогенных антиоксидантов, в том числе коэнзима Q_{10} (CoQ_{10}) [13]. CoQ_{10} играет фундаментальную роль в обеспечении работы митохондрий и биоэнергетике клетки [5]. Экспериментальные и клинические исследования показали, что восполнение его дефицита способно обеспечить кардиопротекцию [4, 12].

Существующие препараты CoQ_{10} представляют собой лекарственные формы для приема внутрь. Известно, что биодоступность CoQ_{10} при таком способе введения крайне мала из-за ограниченной абсорбции вследствие низкой растворимости, полярности и большой молекулярной массы [6, 14]. Парентеральные пути введения способны обеспечить быстрое повышение уровней убихинона в плазме и тканях, что может быть особенно важно в неотложной терапии инфаркта миокарда. В организме CoQ_{10} существует в 2 формах

— окисленной (убихинон) и восстановленной (убихинол) [4, 6]. Экспериментально доказано, что размер инфаркта миокарда, развивающегося после коронарной окклюзии у крыс, значительно уменьшается после внутривенного введения убихинона [9, 10]. Очевидно, что основная роль в достижении протекторных эффектов убихинона обусловлена антиоксидантными свойствами, реализуемыми после его превращения в организме в восстановленную форму — убихинол. Выраженные липофильные свойства обеих форм коэнзима Q_{10} исключают возможность создания внутривенной лекарственной формы в виде истинного раствора. В настоящее время разработана инновационная лекарственная форма убихинола — 1 % раствор его солибутилизированной субстанции для внутривенного введения (патент RU2635993-C1). Цель исследования — оценка кардиопротекторной эффективности инновационной лекарственной формы убихинола для внутривенного введения в эксперименте.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все процедуры с животными проведены в соответствии с требованиями руководства по содержанию и использованию лабораторных животных и одобрены биоэтической комиссией Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова. Крыс-самцов Wistar (30 животных, Филиал “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, Чехов) содержали в стандартных условиях при температуре 18–22 °С, 12:12 часовом периоде освещения, со свободным доступом к воде и корму.

¹ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, Россия, 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 27, корп. 1; e-mail: Kulyak-Olesya@mail.ru

² ЗАО НПО “Дом фармации”, Россия, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г. п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, корп. 245; e-mail: spbpharm@mail.ru

³ ЗАО “Санкт-Петербургский институт фармации”, Россия, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г. п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, корп. 245; e-mail: spbpharm@mail.ru

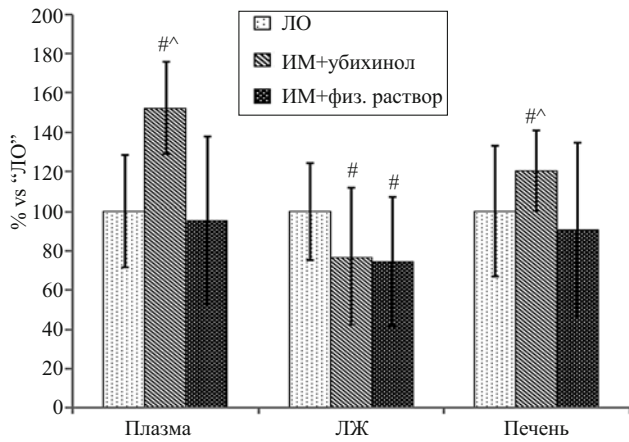


Рис. 1. Относительное содержание CoQ_{10} в плазме, тканях ЛЖ и печени крыс 3 экспериментальных групп на 21 сут после операции. Значения в группе ложнооперированных животных (ЛО) приняты за 100 %.

[#] $p \leq 0,05$ vs "ЛО", [^] $p \leq 0,01$ vs "ИМ + физиологический раствор".

В первой серии экспериментов определяли содержание препарата в левом желудочке (ЛЖ) сердца крыс после однократного внутривенного введения. Животных наркотизировали этаминалом натрия (45 мг/кг, внутривенно), катетеризовали бедренную вену и вводили препарат в дозе 10 мг/кг или физиологический раствор. Спустя 0,25 и 24 ч проводили забор ЛЖ, используя по 4 животных на каждую временную точку. ЛЖ замораживали и хранили при -20°C до количественного определения. Общее содержание коэнзима Q_{10} в миокарде измеряли методом ВЭЖХ с электрохимическим детектированием [11].

Во второй серии экспериментов исследовали кардиопротективную эффективность препарата. Ранее нами была показана кардиопротективная эффективность убихинона — окисленной формы CoQ_{10} в дозах 10 и 30 мг/кг [7, 10]. С учетом обоснованных ожиданий большей эффективности убихинола выбор был сделан в пользу дозы 10 мг/кг. Животных (300 – 350 г) наркотизировали этаминалом натрия (45 мг/кг, внутривенно), ЭКГ регистрировали в I отведении "Macintosh-MacLab" ("ADInstruments", Australia). После интубации животного (Inspira Advanced Safety Ventilator, Volume Controlled 55 – 7058, Harvard Apparatus) проводили торакотомию с удалением 4-го ребра и накладывали лигатуру с помощью асептической иглы (Proline 6/0, Ethicon, USA) на нисходящую ветвь левой коронарной артерии. Ишемию миокарда (ИМ) верифицировали визуально и при помощи ЭКГ. Для введения препарата катетеризовали бедренную вену. Через 10 мин после окклюзии животным внутривенно вводили убихинол в дозе 10 мг/кг (группа "ИМ + убихинол", $n = 10$) или физиологический раствор в объеме 1 мл/кг (группа "ИМ + физиологический раствор", $n = 12$). Крысам третьей группы проводили ложную операцию (не затягивали лигатуру) и

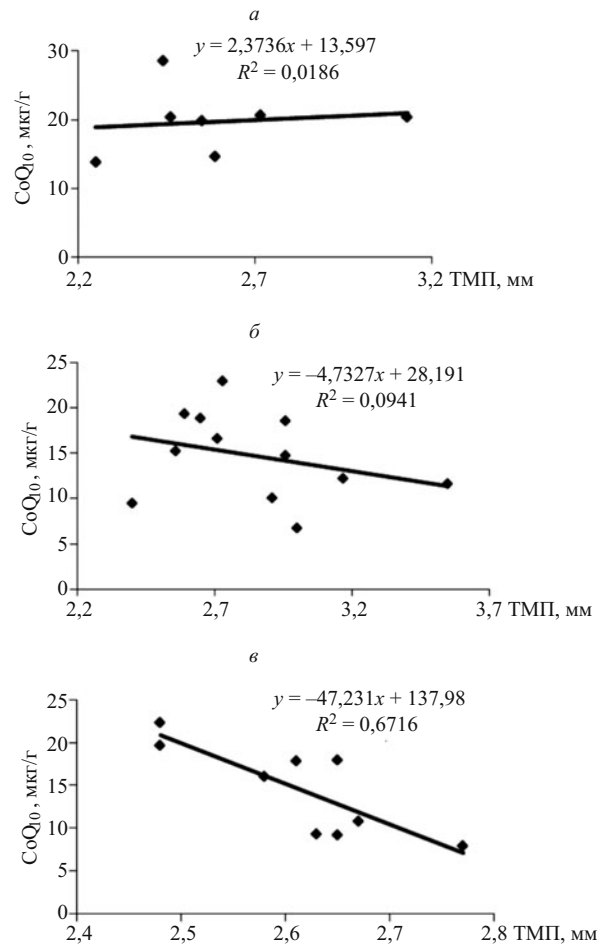


Рис. 2. Соотношение уровня CoQ_{10} в миокарде ЛЖ и толщины межжелудочковой перегородки (ТМП) у животных на 21 сут после окклюзии коронарной артерии в группах "ИМ + физиологический раствор" (а), "ИМ + убихинол" (б) или ложной операции (в). Линейный коэффициент корреляции статистически значим только в группе "ИМ + убихинол" (б).

вводили физиологический раствор в объеме 1 мл/кг (группа "ЛО", $n = 8$).

Оценку эффективности препарата проводили на 21 сут по размеру зоны повреждения, величине гипертрофии миокарда ЛЖ и общему содержанию CoQ_{10} в плазме, ЛЖ и печени.

На 21 сут животных подвергали эвтаназии 3 М раствором KCl внутривенно. Проводили забор образцов плазмы, печени, миокарда и хранили при температуре -20°C для дальнейшего анализа. Для оценки размера зоны повреждения замороженный ЛЖ разделяли на поперечные срезы толщиной 2 мм, которые инкубировали в 2 % растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида в фосфатном буфере ($\text{pH} = 7,4$) при температуре 37°C в течение 15 мин. Прокрашенные срезы фотографировали с 2 сторон видеокамерой "Sony" при помощи микроскопа "Olympus". Подсчет размеров зоны повреждения проводили на снимках поперечных срезов сердец при помощи программы ImageJ 1.45s. Зону ишемического повреждения при интрамуральном расположении инфаркта определяли как отношение зоны

неокрашенного миокарда к общей площади среза (%); при сформированной аневризме — как отношение длины постинфарктного рубца к общей длине окружности среза (%). Оценку гипертрофии миокарда проводили по показателю толщины межжелудочковой перегородки (мм). Общее содержание коэнзима Q_{10} в биообразцах измеряли методом ВЭЖХ с электрохимическим детектированием [3, 11].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA 6.0. Результаты представлены как среднее значение \pm SD. Разницу между группами оценивали с помощью U-критерия Манна — Уитни, корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Однократное внутривенное введение раствора убихинола приводило к значительному (около 50 %) приросту его содержания в миокарде уже через 15 мин; через 1 сут этот уровень сохранялся повышенным [2].

Смертность животных в первые сутки после окклюзии коронарной артерии не различалась в группах “ИМ + физиологический раствор” и “ИМ + убихинол” и отсутствовала на протяжении последующих суток, вплоть до окончания эксперимента.

Постинфарктное повреждение миокарда на 21 сут проявлялось как в виде интрамурально расположенных рубцов (у всех животных), так и в виде аневризмы стенки ЛЖ (у 9 животных из 12 в группе “ИМ + физиологический раствор” и у 6 животных из 10 в группе “ИМ + убихинол”). Внутривенное введение убихинола значительно ограничило величину аневризмы ЛЖ, ($13,19 \pm 7,13$) % vs ($31,55 \pm 17,9$) %, ($p < 0,05$), не изменив существенно размер рубцов в толще миокарда ЛЖ, ($12,80 \pm 6,9$) % vs ($14,26 \pm 9,5$) % в группах “ИМ + убихинол” и “ИМ + физиологический раствор” соответственно.

У животных группы “ИМ + физиологический раствор” развивалась гипертрофия миокарда ЛЖ: толщина межжелудочковой перегородки составила ($2,83 \pm 0,27$) мм, что существенно выше ($p < 0,05$), чем в группе “ЛО” — ($2,51 \pm 0,29$) мм. В группе “ИМ + убихинол” этот показатель был значительно ниже ($2,61 \pm 0,03$) мм ($p < 0,05$), чем в группе “ИМ + физиологический раствор” и статистически не отличался от группы “ЛО”.

Уровень CoQ_{10} на 21 сут в плазме животных группы “ИМ + убихинол” оставался повышенным, ($0,064 \pm 0,015$) мкг/мл ($p < 0,01$), относительно групп “ИМ + физиологический раствор”, ($0,040 \pm 0,107$) мкг/мл и “ЛО” ($0,041 \pm 0,012$) мкг/мл, не различающихся между собой. Содержание CoQ_{10} в ткани ЛЖ постинфарктных сердец животных групп “ИМ + физиологический раствор” ($14,71 \pm 4,81$) мкг/г и “ИМ + убихинол” ($15,22 \pm 5,29$) мкг/г не различалось и было ниже, чем в

группе “ЛО” ($19,75 \pm 4,84$) мкг/г ($p < 0,05$). В ткани печени содержание CoQ_{10} у животных группы “ИМ + убихинол” ($24,94 \pm 5,04$) мкг/г сохранялось повышенным ($p < 0,05$) относительно групп “ИМ + физиологический раствор” ($15,90 \pm 4,02$) мкг/г и “ЛО” ($18,29 \pm 5,44$) мкг/г (рис. 1). Накопление убихинола в печени с последующим высвобождением в кровь, аналогично убихинону [1, 10], обеспечивает его долговременное повышенное содержание в плазме.

Высокое содержание убихинола в тканях после введения препарата ограничивает постинфарктное повреждение сердечной мышцы: размер аневризмы и гипертрофии миокарда ЛЖ в группе, получавшей препарат были значимо ниже. Несмотря на то, что к 21 сут в результате элиминации содержание CoQ_{10} в миокарде приближалось к уровню, отмеченному для группы крыс, не получавших препарат, только у животных, получавших убихинол, присутствует корреляционная зависимость между толщиной межжелудочковой перегородки и содержанием убихинола в миокарде (рис. 2), которая показывает, что именно введение убихинола обусловило кардиопротекторный эффект. Полученный результат сопоставим с эффективностью внутривенного введения большей дозы (30 мг/кг) убихинона — окисленной формы CoQ_{10} [3, 8].

ВЫВОДЫ

1. Однократное внутривенное введение 1 % водного раствора солюбилизованного убихинола (10 мг/кг) крысам в первые 10 мин после окклюзии коронарной артерии сокращает размер аневризмы (на 18,36 %, $p < 0,05$) и предотвращает развитие гипертрофии ЛЖ.

2. Выявлена заметная отрицательная корреляционная связь между толщиной межжелудочковой перегородки и содержанием убихинола в ткани ЛЖ животных с экспериментальным инфарктом миокарда, получавших убихинол (коэффициент Пирсона = $-0,6716$), что свидетельствует о его роли в ограничении постинфарктного ремоделирования ЛЖ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-15-00126).

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. И. Каленикова, Е. А. Городецкая, О. Г. Токарева, *Хим.-фарм. журн.*, **49**(11), 3 – 7 (2015); *Pharm. Chem. J.*, **49**(11), 719 – 723 (2015).
2. Е. И. Каленикова, Е. А. Городецкая, О. Ю. Куляк, *Хим.-фарм. журн.*, **51**(11), 3 – 7 (2017); *Pharm. Chem. J.*, **51**(11), 949 – 953 (2018).
3. Е. И. Каленикова, О. Г. Токарева, О. Ю. Куляк и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **78**(6), 12 – 14 (2015).
4. A. Ayer, P. Macdonald, R. Stoker, *Annu Rev Nutr.*, **35**, 175 – 213 (2015).
5. M. Bentinger, M. Tekle, G. Dallner, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **21**, **396**(1), 74 – 79 (2010).
6. H. N. Bhagavan, R. K. Chopra, *Free Radic Res.*, **40**(5), 445 – 453 (2006).
7. E. Gorodetskaya, O. Tokareva, O. Kulyak, *J. Hypertension*, vol. 32, e-supplement 1, e462 – e462 (2014).

8. A. Ivanov, O. Tokareva, E. Gorodetskaya, *J. Clin. Exp. Cardiol.*, **5**(4), 1 – 6 (2014).
9. A. V. Ivanov, E. A. Gorodetskaia, E. I. Kalenikova, O. S. Medvedev, *Eksper. Klin. Farmakol.*, **76**(2), 6 – 8 (2013).
10. A. V. Ivanov, E. A. Gorodetskaya, E. I. Kalenikova, O. S. Medvedev, *Bul. Exp. Biol. Med.*, **155**(6), 771 – 774 (2013).
11. E. I. Kalenikova, E. A. Gorodetskaya, O. S. Medvedev, *Bul. Exp. Biol. Med.*, **146**(3), 313 – 316 (2008).
12. A. Kumar, H. Kaur, P. Devi, V. Mohan, *Pharmacol. Ther.*, **124**(3), 259 – 268 (2009).
13. G. P. Littarru, L. Tiano, *Nutrition.*, **26**(3), 250 – 254 (2010).
14. M. V. Miles, *Mitochondrion.*, **7**, S72 – S77 (2007).

Поступила 14.01.2018

EVALUATION OF CARDIOPROTECTIVE EFFICACY OF INNOVATIVE DOSAGE FORM OF UBIQINOL FOR INTRAVENOUS ADMINISTRATION

O. Yu. Kulyak¹, E. A. Gorodetskaya¹, E. I. Kalenikova¹, M. N. Makarova²,
O. N. Pozharitskaya³, and O. S. Medvedev¹

¹ Faculty of Medicine, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

² Dom Farmatsii Co., ul. Zavodskaya 3, korp. 245, Kuzmolovo, Vsevolozhsk district, Leningrad oblast, 188663 Russia

³ St. Petersburg Institute of Pharmacy, Kuzmolovo, Vsevolozhsk district, Leningrad oblast, 188663 Russia

* e-mail: Kulyak-Olesya@mail.ru

Cardioprotective efficacy of innovative dosage form of ubiquinol for intravenous administration was investigated on the experimental myocardial infarction model in rats. According to the assessment made on the 21st day, intravenous administration of the drug injected in 10 min after coronary artery occlusion (10 mg/kg) significantly reduced the size of aneurysm (18.36%, $p < 0.05$) and prevented from the development of myocardial hypertrophy of the left ventricle. The group of animals receiving the drug showed the inverse correlation ($r = -0.6716$) between the concentration of CoQ10 in the myocardium and the thickness of the interventricular septum, which underlines its role in postinfarction damage limitation.

Keywords: coenzyme Q10; ubiquinol; cardioprotection; myocardial infarction; HPLC-EC.