

# ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

## КОЭНЗИМ Q<sub>10</sub>, ВВЕДЕННЫЙ ОДНОКРАТНО ВНУТРИВЕННО, ЗАЩИЩАЕТ МИОКАРД ОТ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

А. В. Иванов, Е. А. Городецкая, Е. И. Каленикова, О. С. Медведев<sup>1</sup>

На модели ишемии-реперфузии миокарда крыс Вистар изучали эффекты коэнзима Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>), введенного внутривенно (30 мг/кг) за 30 мин до окклюзии коронарной артерии. У животных, получивших CoQ<sub>10</sub>, 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 CoQ<sub>10</sub> в левом желудочке на 210 % ( $p < 0,01$ ) относительно контрольных крыс. Выявлена отрицательная корреляционная зависимость между содержанием CoQ<sub>10</sub> в миокарде и размером зоны некроза ( $r = -0,774$ ,  $p = 0,0002$ ). Полученные данные свидетельствуют о кардиопротекторной эффективности CoQ<sub>10</sub>, введенного внутривенно перед ишемией-реперфузией миокарда.

**Ключевые слова:** коэнзим Q<sub>10</sub>; кардиопротекторное 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 кардиопротекторов [5].

Известно, что коэнзим Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) 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 кардиопротекторного действия CoQ<sub>10</sub> может быть ингибирование временных пор в мембране митохондрий, открывающихся под действием избытка активных форм кислорода [1–3].

CoQ<sub>10</sub> 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 CoQ<sub>10</sub> в клетки миокарда. Мгновенное повышение концентрации CoQ<sub>10</sub> в крови с последующим быстрым его поступлением в миокард возможно при внутривенном введении.

Целью данной работы была оценка кардиопротекторной эффективности предварительного однократного внутривенного введения CoQ<sub>10</sub> перед ишемией-реперфузией миокарда крысы.

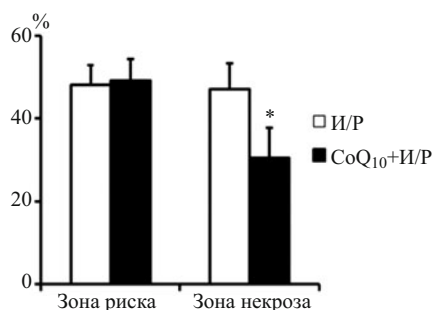
### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

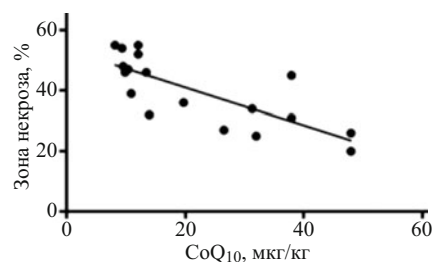
*Возможность повышения содержания CoQ<sub>10</sub> в миокарде крысы через 30 мин после однократного внутривенного введения CoQ<sub>10</sub>.* Животным через полиэтиленовый катетер P10/P50 в бедренной вене вводили либо физиологический раствор (физ. р-р, 0,9 % NaCl, 1 мл/кг) — группа “контроль” ( $n = 7$ ), либо раствор солиобилизованного CoQ<sub>10</sub>, 30 мг/кг (“Кудесан раствор”, Аквион, Россия) — группа “CoQ<sub>10</sub>” ( $n = 5$ ). Через 30 мин после инъекции животных умерщвляли внутривенным введением 3 М KCl (2 мл), сердца извлекали и оставляли до ВЭЖХ анализа при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

*Оценка кардиопротекторной эффективности предварительного внутривенного введения CoQ<sub>10</sub> на модели ишемии-реперфузии.* Операции проводили в стерильных условиях при постоянной температуре тела животного ( $37,5 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Использована модель ишемии-реперфузии, вызванная временной окклюзией (30 мин) левой коронарной артерии с последующей

<sup>1</sup> 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 CoQ<sub>10</sub> (“CoQ<sub>10</sub> + И/Р”) за 30 мин до ишемии-реперфузии. \* —  $p < 0,01$  в сравнении с группой “И/Р”.



**Рис. 2.** Взаимосвязь между содержанием CoQ<sub>10</sub> в миокарде левого желудочка и размером зоны некроза у крыс после 30 мин ишемии и 120 мин реперфузии ( $r = -0,774$ ,  $p = 0,0002$ ).

реперфузией (120 мин). За 30 мин до окклюзии крысам внутривенно вводили физиологический раствор (1 мл/кг) в группе “И/Р” ( $n = 11$ ), CoQ<sub>10</sub> (30 мг/кг) в составе препарата “Кудесан раствор” в группе “CoQ<sub>10</sub> + 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  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Оценивали величину зоны некроза ЛЖ, частоту эпизодов аритмий и их длительность, определяли содержание CoQ<sub>10</sub> 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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 15 мин в 1 % раствор трифенилтетразолия хлорида в фосфатном буфере (pH 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 CoQ<sub>10</sub> 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-

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 CoQ<sub>10</sub> в миокарде крысы через 30 мин после однократного внутривенного введения CoQ<sub>10</sub>.* Однократное внутривенное введение CoQ<sub>10</sub> 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 CoQ<sub>10</sub> 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 CoQ<sub>10</sub> наблюдается сходное повышение его содержания в миокарде. Этот факт обусловил выбор момента введения CoQ<sub>10</sub> в серии экспериментов с ишемией-реперфузией.

*Оценка кардиопротекторной эффективности предварительного внутривенного введения CoQ<sub>10</sub> 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 “CoQ<sub>10</sub> + 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 “CoQ<sub>10</sub> + И/Р”. В группе “CoQ<sub>10</sub> + И/Р” реперфузионные аритмии возникали позже (через  $40 \pm 8$  с от начала реперфузии в группе “CoQ<sub>10</sub> + И/Р” и через  $14 \pm 13$  с в группе “И/Р”) и длились меньше ( $26 \pm 14$  с в группе “CoQ<sub>10</sub> + И/Р” и  $52 \pm 17$  с в группе “И/Р”). Статистическое сравнение временных характеристик ЖТА не проводили, т.к. ЖТА в группе “CoQ<sub>10</sub> + И/Р” наблюдались только у двух крыс.

Выявленный противоаритмический эффект CoQ<sub>10</sub> в период реперфузии (уменьшение частоты возникнове-

ния и длительности аритмий) и отсутствие различий в период ишемии может быть признаком того, что CoQ<sub>10</sub> ограничивает именно реперфузионное повреждение миокарда.

В результате внутривенного введения препарата CoQ<sub>10</sub> произошло повышение его содержания в миокарде. Через 180 мин после введения уровень CoQ<sub>10</sub> в миокарде ЛЖ был на 210 % выше ( $p < 0,01$ ), чем у контрольных крыс. Анализ соотношения размера зоны некроза и содержания CoQ<sub>10</sub> в миокарде животных из групп “И/Р” и “CoQ<sub>10</sub> + И/Р” выявил, что большему количеству CoQ<sub>10</sub> в миокарде соответствует меньший размер зоны некроза ( $r = -0,774$ ,  $p < 0,001$ ), рис. 2.

Немногочисленные экспериментальные исследования показали, что внутрикoronарное или внутривенное введение липосомальных форм CoQ<sub>10</sub> повышает уровни CoQ<sub>10</sub> 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 CoQ<sub>10</sub> защищает миокард от последующей ишемии-реперфузии не менее эффективно, чем липосомальные формы, причем достигнутое повышение миокардиальных уровней CoQ<sub>10</sub> приводит к пропорциональному снижению зоны некроза. Взаимосвязь между тканевыми уровнями CoQ<sub>10</sub> и выраженностью сердечно-сосудистой патологии выявлена и в клинике [7, 8, 11, 12]. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью сниженный уровень CoQ<sub>10</sub> тесно коррелирует со смертностью [9].

## ВЫВОД

Однократное предварительное внутривенное введение препарата CoQ<sub>10</sub> 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 Q<sub>10</sub> 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 Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) injected intravenously 30 min before coronary artery occlusion were assessed on the model of myocardial ischemia/reperfusion in Wistar rats. Rats treated with CoQ<sub>10</sub> 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 CoQ<sub>10</sub> (by 210%,  $p < 0.01$ ) as compared to saline-treated rats. Increased CoQ<sub>10</sub> 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 CoQ<sub>10</sub> injected intravenously before myocardial ischemia/reperfusion.

**Keywords:** coenzyme Q<sub>10</sub>; cardioprotective effect; intravenous injection; myocardial ischemia/reperfusion