

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ КОЭНЗИМА Q₁₀ НА МИОКАРД В ОСТРОЙ СТАДИИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ

О. Г. Токарева, А. В. Иванов, Н. В. Данилова, Е. А. Городецкая, П. Г. Мальков, Н. М. Гайфуллин, Е. И. Каленикова, О. С. Медведев¹

На экспериментальной модели инфаркта миокарда крыс Wistar исследовали влияние CoQ₁₀ (30 мг/кг), введенного однократно внутривенно через 10 мин после коронарной окклюзии, на ишемические изменения в период раннего ремоделирования (морфометрия через 72 ч от начала ишемии). У животных, получивших CoQ₁₀, относительно контрольной группы крыс с инфарктом выявили ограничение общих размеров зоны повреждения миокарда на 52 %, в том числе, зоны некроза — на 84 %, зоны инфльтрации клетками воспалительного ответа — на 38 % ($p < 0,001$).

Ключевые слова: инфаркт миокарда; воспаление; коэнзим Q₁₀; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Окклюзия коронарной артерии вызывает функциональные, биохимические и морфологические изменения в снабжаемом ею регионе миокарда. Длительная ишемия приводит к гибели кардиомиоцитов, что провоцирует развитие острого воспалительного ответа, достигающего максимальной выраженности на 3 сутки [3]. Формирование очага некроза, как правило, происходит в течение первых 3 – 6 ч, и терапевтические вмешательства наиболее эффективны в это временное окно [8]. Экспериментальные [1, 15] и клинические [6, 9, 10] исследования показали кардиопротекторный эффект препаратов, содержащих CoQ₁₀.

Коэнзим Q₁₀ (CoQ₁₀) — регенерирующийся, мощный внутриклеточный антиоксидант, функциональный элемент всех клеточных мембран организма, важное составляющее звено в процессе электронного транспорта и окислительного фосфорилирования [2]. Кардиопротекторные свойства CoQ₁₀ связывают с его способностью участвовать в синтезе АТФ, нейтрализовать избыточное образование активных форм кислорода, подавляя перекисное окисление липидов [14]. Другим возможным механизмом защитного действия CoQ₁₀ может быть регуляция функционального состояния митохондриальных пор временной проницаемости, открытие которых запускает механизмы клеточного апоптоза [11].

В последнее время было показано влияние CoQ₁₀ на экспрессию сотен человеческих генов, регулирующих различные клеточные механизмы: передачу клеточного сигнала, обмен и транспорт веществ. Анализ этих генов *in silico* подтвердил гипотезу участия CoQ₁₀ в

воспалительном ответе [12]. В экспериментах *in vitro* показан противовоспалительный эффект CoQ₁₀, реализующийся за счет влияния на экспрессию NFκB1-зависимых генов [13]. В клиническом исследовании пациентов со стенозом коронарной артерии более 50 % показано снижение плазменного уровня TNF-α в результате длительного ежедневного приема 300 мг CoQ₁₀, причем между плазменным содержанием CoQ₁₀ и маркерами воспаления (TNF-α, IL-6) выявлена отрицательная корреляционная связь [10].

Целью исследования было изучение влияния однократного внутривенного введения препарата CoQ₁₀ на морфологические изменения миокарда через 3 сут региональной ишемии, а именно — на процессы начального формирования инфарктной зоны и выраженность воспалительного ответа у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 22 наркотизированных (натрия пентобарбитал, 45 мг/кг, внутривенно) крысах-самцах Вистар массой 250 – 300 г (лаборатория экспериментальных животных Института медико-биологических проблем РАН) с соблюдением правил “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition” (2010). Животные, содержащиеся в условиях 12/12-часового светового режима, получали стандартный корм и питьевую воду *ad libitum*.

Экспериментальная модель инфаркта миокарда (ИМ). Необратимую ишемию миокарда создавали окклюзией передней нисходящей ветви левой коронарной артерии. Развитие ишемии верифицировали визуально и с помощью ЭКГ (“MacLab”, “ADInstruments”, Австралия). Ранее нами была показана высокая кардиопротекторная эффективность CoQ₁₀, введенного внутривенно в дозе 30 мг/мл/кг через 10 мин [1] или 60 мин [7] от начала ишемии. В данном исследовании

¹ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, 119192, Москва, Ломоносовский проспект, д. 31, корп. 5.

довании раствор солюбилизированного CoQ₁₀ (“Кудесан раствор”, 30 мг/мл/кг, ЗАО Аквион, Россия) вводили внутривенно через 10 мин после окклюзии животным группы “ИМ+CoQ₁₀” ($n = 8$); крысам группы “ИМ” ($n = 7$) и ложнооперированным животным ($n = 7$) в/в вводили физиологический раствор (1 мл/кг).

Морфологическое исследование. Через 72 ч после операции животных подвергали эвтаназии (3 М KCl, внутривенно). Сердца извлекали, фиксировали в 10 % нейтральном формалине, разделяли на 4 – 6 мм поперечные срезы, обезвоживали, заключали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на микротоме и окрашивали гематоксилином-эозином. Полученные препараты изучали под световым микроскопом (Leica DM 4000) с использованием программного обеспечения Leica Application Suite 8.0 и цифровой камеры высокого разрешения Leica DFC 495. Планиметрически (ImageJ, National Institutes of Health, USA) в процентном отношении к общей площади срезов левого желудочка (ЛЖ) оценивали общий размер повреждения, состоящий из зоны некроза и зоны воспалительного инфильтрата.

Статистическая обработка результатов. Данные представлены в виде “медиана [25 – 75 %]”. Статистическую значимость ($p < 0,05$) определяли по критерию Манна-Уитни с помощью программного пакета Statistica 8.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее показано, что однократная внутривенная инъекция раствора CoQ₁₀ животным с инфарктом миокарда обеспечивает повышенное содержание CoQ₁₀ в плазме и миокарде на протяжении 21 сут, что ограничивает размер зоны рубца, расширение камеры ЛЖ, улучшает показатели систолической и диастолической функции ЛЖ, предотвращает гипертрофию правого желудочка и ограничивает гипертрофию ЛЖ [1]. Ограничение инфарктной зоны могло быть следствием как меньшей гибели кардиомиоцитов, так и более интенсивных репаративных процессов.

Полученные в данном исследовании морфологические данные продемонстрировали, что пополнение миокардиальных уровней CoQ₁₀ повышает выживаемость кардиомиоцитов в условиях ишемии. Необратимая окклюзия коронарной артерии приводила к образованию зоны некроза миокарда у всех животных групп “ИМ” и “ИМ + CoQ₁₀”. У ложнооперированных

крыс миокард имел обычную гистологическую структуру с небольшим повреждением в месте наложения лигатуры. На микропрепаратах выявлена картина инфаркта миокарда, схожая с ее классическим описанием [4]. У всех животных группы “ИМ” наблюдали обширный трансмуральный некроз миокарда. В зоне ишемии выявлены дистрофические и дегенеративные изменения кардиомиоцитов: истончение, резорбция, исчезновение или нечеткость поперечной исчерченности. По периферии зоны некроза была ярко выражена область демаркационного воспаления. Наличие отека стромы с расширенным соединительнотканым пространством, эритроцитарным стазом, обширными диapedезными кровоизлияниями свидетельствовало об изменениях со стороны микроциркуляторного русла. Выявлено формирование молодой грануляционной ткани. Общая зона повреждения, включающая области некроза и инфильтрации, в группе “ИМ” составила около 40 %, из них около 15 % — зона некроза и около 27 % — зона воспалительного инфильтрата (таблица).

В отличие от обширного трансмурального некротического повреждения стенки ЛЖ инфарктных крыс в контроле, у 7 из 8 животных, получавших CoQ₁₀, очаги некроза были расположены в толще мышечной стенки. Общая зона повреждения оказалась значительно меньше и составила 19 %, в том числе, зона некроза — 2 %, зона инфильтрации — 16 % (таблица).

Общеизвестно [8], что некроз кардиомиоцитов приводит к развитию острого воспалительного ответа. Воспалительные процессы участвуют в заживлении и замещении очага повреждения рубцовой тканью. Однако чрезмерная интенсивность воспаления в раннем периоде может усилить деградацию матрикса и даже привести к разрыву сердечной мышцы. Пролонгирование воспалительной реакции отрицательно влияет на укладку коллагена и ведет к формированию рубца со сниженным сопротивлением к растяжению и, как следствие, дилатации камеры ЛЖ. Усиленная экспрессия провоспалительных медиаторов активирует проапоптотические сигнальные пути, вызывающие дальнейшее повреждение кардиомиоцитов. Дисбаланс в каскаде воспалительного ответа приводит к инфильтрации нейтрофилами миокарда, что усиливает фиброз и усугубляет диастолическую дисфункцию [5].

В данном исследовании меньшие зоны инфильтрации и некроза в миокарде у крыс группы “ИМ + CoQ₁₀” относительно контрольной группы жи-

Морфометрическая оценка повреждения миокарда крысы на 3 сут инфаркта (Ме [Q₂₅ – Q₇₅])

Экспериментальная группа	Величина повреждения миокарда, % к общей площади срезов			Отношение размеров зон инфильтрации и некроза
	общая зона повреждения	зона некроза	зона инфильтрации	
Инфаркт миокарда (“ИМ”)	40,1 [37,9 – 45,2]	15,1 [12,7 – 17,1]	26,6 [25,2 – 28,7]	1,73 [1,54 – 2,17]
Инфаркт миокарда + CoQ ₁₀ (“ИМ + CoQ ₁₀ ”)	19,2* [12,1 – 24,5]	2,4 * [1 – 4]	16,3 * [11,1 – 19,8]	8,13* [4,93 – 11,28]

* — достоверность различий между группами ($p < 0,001$).

вотных являются следствием меньшей гибели кардиомиоцитов. В свою очередь, бóльшая доля площади инфльтрации в общей зоне повреждения у крыс, получивших инъекцию CoQ₁₀, относительно контрольных животных (таблица) свидетельствует об ускоренном процессе репарации. Ограничение острого воспалительного ответа миокарда в острой стадии повреждения при экспериментальном инфаркте способно уменьшить выраженность последующих фибротических изменений, ведущих к гипертрофии миокарда, повышению жесткости сердечной мышцы и развитию дисфункции сердечной деятельности.

ВЫВОД

Однократное внутривенное введение CoQ₁₀ в дозе 30 мг/кг в первые минуты ишемии миокарда оказывает кардиопротективный эффект, проявляющийся в период раннего ремоделирования уменьшением объемов повреждения миокарда на 52 % относительно контрольной группы ($p < 0,001$).

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

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Иванов, Е. А. Городецкая, Е. И. Каленикова и др., *Бюл. экспер. мед. и биол.*, **155**(6), 736 – 738 (2013).
2. M. Bentinger, M. Tekle, G. Dallner, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **396**(1), 74 – 79 (2010).
3. M. C. Fishbein, D. Maclean, P. R. Maroko, *Am. J. Pathol.*, **90**(1), 57 – 70 (1978).
4. N. G. Frangogiannis, *Antioxid Redox Signal*, **8**(11 – 12), 1907 – 1939 (2006).
5. N. G. Frangogiannis, *Circ Res*, **110**(1), 159 – 173 (2012).
6. S. Fumagalli, F. Fattiroli, L. Guarducci, et al., *Clin Cardiol*, **34**(4), 211 – 217 (2011).
7. Ivanov, O. Tokareva, E. Gorodetskaya, et al., *J. Clin. Exp. Cardiol.*, **5**(4), 2014.
8. V. Kumar, *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*, 8th ed., Philadelphia (2010).
9. B. J. Lee, Y. C. Huang, S. J. Chen, et al., *Nutrition*, **28**(3), 250 – 255 (2012).
10. B. J. Lee, Y. F. Tseng, C. H. Yen, et al., *Nutr. J.*, **12**(1), 142 (2013).
11. V. F. Sahach, H. L. Vavilova, O. V. Rudyk, et al., *Fiziol Zh.*, **53**(4), 35 – 42 (2007).
12. C. Schmelzer, I. Lindner, C. Vock, et al., *IUBMB Life*, **59**(10), 628 – 633 (2007).
13. C. Schmelzer, G. Lorenz, G. Rimbach, et al., *Clin. Biochem. Nutr.*, **44**(1), 62 – 66 (2009).
14. H. Tsuneki, N. Sekizaki, T. Suzuki, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **566**(1 – 3), 1 – 10 (2007).
15. D. D. Verma, W. C. Hartner, V. Thakkar, et al., *Pharm. Res.*, **24**(11), 2131 – 2137 (2007).

Поступила 26.06.14

EFFECT OF COENZYME Q₁₀ ON RAT MYOCARDIUM IN THE ACUTE STAGE OF EXPERIMENTAL INFARCTION

O. G. Tokareva, A. V. Ivanov, N. V. Danilova, E. A. Gorodetskaya, P. G. Mal'kov, N. M. Gaifullin, E. I. Kalenikova, and O. S. Medvedev

Department of Fundamental Medicine, M. V. Lomonosov Moscow State University, Lomonosovskii prosp. 31/5, Moscow, 119192 Russia

The influence of coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) on early ischemic deterioration was studied on Wistar rats with experimental myocardial infarction. CoQ₁₀ (30 mg/kg) was injected intravenously 10 min after coronary artery occlusion, and morphometric analysis was performed for 72 h after the onset of ischemia. CoQ₁₀-treated rats had restricted total myocardial damage (by 52%), including areas of necrosis (by 84%) and areas of cellular inflammatory infiltration (by 38%) as compared to saline-treated rats ($p < 0.001$).

Keywords: myocardial infarction; inflammation; coenzyme Q₁₀; rats