

©Коллектив авторов

## ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ УБИХИНОЛА НА МОДЕЛИ РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА КРЫС

*А.В. Калатанова<sup>1\*</sup>, В.Г. Макаров<sup>1</sup>, Н.М. Фаустова<sup>2</sup>, Я.И. Гуцин<sup>3</sup>, М.Н. Макарова<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>ЗАО “Санкт-Петербургский институт фармации”,  
188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, п. Кузьмоловский, 245; эл. почта: kalatanova.av@doclinika.ru

<sup>2</sup>ЗАО “Институт экспериментальной фармакологии”,

188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, п. Кузьмоловский, 245

<sup>3</sup>АО “НПО “ДОМ ФАРМАЦИИ””, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, п. Кузьмоловский, 245

В статье представлены результаты экспериментального доклинического исследования, целью которого являлась оценка кардиопротекторного действия 1% раствора убихинола при внутривенном введении в условиях экспериментального реперфузионного повреждения миокарда крыс. Исследование проводилось с использованием половозрелых самцов аутбредных крыс, моделирование ишемии-реперфузии миокарда осуществлялось путём 30-минутного лигирования левой коронарной артерии с последующей реперфузией. В качестве критериев оценки развития патологии использовали результаты электрокардиографии, биохимического анализа плазмы крови, гистологическое и гистохимическое исследование миокарда. На фоне развития реперфузионного повреждения миокарда развивались характерные признаки ишемии миокарда у животных, не получавших лечение. Наилучший терапевтический эффект в отношении биохимических показателей оказали стандартный объект Мексидол® и тестируемый объект Убихинол в дозах 2-6 мг/кг. Оценка результатов электрокардиографии во втором стандартном отведении позволила подтвердить развитие ишемического повреждения миокарда во всех группах. Результаты гистохимического и гистологического исследования миокарда позволяют сделать вывод о высокой кардиопротекторной активности убихинола в дозе 3 мг/кг и потенциальном кардиопротекторном эффекте убихинола в дозах, наиболее близких к терапевтической – 2 и 6 мг/кг. Убихинол в дозе 9 мг/кг проявил признаки прооксидантной активности, проявившиеся в виде усугубления развития реперфузионного поражения миокарда. Наиболее эффективными в условиях экспериментальной патологии является препарат убихинол, 1% раствор, в дозе 3 мг/кг, кардиопротекторный эффект которого сопоставим, либо превышает таковой для референтного препарата Мексидол® в терапевтической дозе. В дозах, многократно превышающих терапевтическую, убихинол способен выступать в роли прооксиданта.

**Ключевые слова:** убихинол, доклинические исследования, реперфузионное повреждение миокарда, крысы

**DOI:** 10.18097/PBMC20186402188

### ВВЕДЕНИЕ

Согласно литературным данным, причиной 31% всех смертельных случаев в мире являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [1], 42% из которых приходится на ишемическую болезнь сердца (ИБС). Распространенность ИБС в последние годы растет не только за счёт увеличения числа лиц пожилого возраста, но и за счёт подверженности психоэмоциональным стрессам лиц среднего и молодого возраста [2].

Ишемическое повреждение миокарда сопровождается функциональными и морфологическими изменениями, которые являются следствием истощения энергетических резервов кардиомиоцитов и оксидативного стресса, сопряженного с перекисным окислением липидов клеточных мембран [3]. Реперфузия миокарда после кратковременной ишемии (длящейся до 15 мин) предотвращает повреждение ткани. Восстановление кровотока после более длительной ишемии сопровождается развитием феномена, называемого реперфузионным повреждением миокарда. Постишемический “синдром реперфузии” у больных острым инфарктом миокарда впервые описали Shen и Jennings ещё в 1972 году [4]. Реперфузионное повреждение миокарда,

сопровожающееся значительным снижением содержания коэнзима  $Q_{10}$  (незаменимого компонента клеток, принимающего участие в синтезе АТФ и энергообеспечении организмов с аэробным метаболическим циклом) в миокарде, обусловлено двумя механизмами действия: увеличением продукции свободных радикалов в результате адгезии полиморфонуклеарных моноцитов и увеличением проницаемости митохондриальных каналов [5, 6]. Уменьшение количества коэнзима  $Q_{10}$  в ишемизированном миокарде, в первую очередь, связано с повышенным расходом эндогенного коэнзима  $Q_{10}$  на нейтрализацию продуцируемых свободных радикалов, что, в условиях ишемии миокарда, не может быть компенсировано организмом.

Коэнзим  $Q_{10}$ , используемый для профилактики и терапии ССЗ, предотвращает повреждение биологических мембран [7], оказывает противоишемическое, кардиопротекторное и антигипертензивное действие [8-10].

Перспективность применения препаратов коэнзима  $Q_{10}$  в качестве кардиопротектора обусловлена патогенетическим механизмом развития реперфузионного повреждения миокарда и снижением содержания  $Q_{10}$  в миокарде при ССЗ [11]. Кардиопротекторные свойства развиваются благодаря

тому, что коэнзим  $Q_{10}$  участвует в биоэнергетических процессах в кардиомиоцитах как переносчик в цепи транспорта электронов в митохондриях [12], ингибитор окисления, образования временных пор в мембране митохондрий под действием активных форм кислорода [13, 14]. Известно также, что  $Q_{10}$  принимает участие в регенерации других антиоксидантов (витамина Е) [15].

В организме здорового человека коэнзим  $Q_{10}$  синтезируется из мевалоновой кислоты и производных тирозина и фенилаланина, и более чем на 90% представлен его восстановленной формой (убихинолом) и 10% – окисленной формой (убихиноном). В связи с тем, что коэнзим  $Q_{10}$  в восстановленной форме (убихинол) является эндогенным антиоксидантом, некоторые исследователи считают, что показатели окислительно-восстановительного статуса этого кофермента являются маркером патологий, в основе которых лежит окислительный стресс [16]. Именно в восстановленной форме коэнзим  $Q_{10}$  выступает в качестве антиоксиданта, предотвращающего повреждение мембран в липосомах, липопroteинах низкой плотности (ЛНП), в белках, дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК) и биологических мембранах [7]. Более выраженный эффект убихинола в восстановленной форме по сравнению с окисленной обусловлен химическим строением веществ. Молекула убихинола (в отличие от убихинона) имеет два дополнительных электрона и два протона. Убихинон принимает электрон, нейтрализуя свободные радикалы, тогда как убихинол его отдаёт, обеспечивая более выраженный эффект. Кроме того, две дополнительные гидроксильные группы в молекуле убихинола улучшают его растворимость в воде и, как следствие – улучшают его биодоступность и проникающую способность [17].

В опубликованных результатах исследования фармакокинетики коэнзима  $Q_{10}$  при однократном [18] и многократном [19] внутривенном введении показано, что значительная часть убихинона редуцируется в первые минуты после инъекции, и уже через 7 ч преобладает концентрация убихинола. Снижение общего содержания коэнзима  $Q_{10}$  в плазме сопровождается постепенным увеличением содержания убихинола.

Создание лекарственных средств на основе коэнзима  $Q_{10}$  с использованием в качестве активного вещества убихинола позволяет достичь развития максимального проявления терапевтического эффекта. При экстренной терапии ССЗ в клинике необходимо обеспечить скорейшее поступление действующих веществ в организм, минуя желудочно-кишечный тракт, для чего, как правило, используются инъекционные формы лекарственных средств. Плохая растворимость коэнзима  $Q_{10}$  в водной среде не позволяет использовать простые растворители для приготовления инъекционных форм, в то время как разработанные сложные смеси для получения раствора коэнзима  $Q_{10}$  способны как усилить, так и ослабить его биодоступность. Таким образом, актуальным является создание готовой лекарственной формы убихинола, подходящей для инъекционного

введения с высоким уровнем высвобождения, малой токсичностью и доказанной эффективностью.

Данное экспериментальное доклиническое исследование было проведено с целью определения кардиопротекторного действия 1% (масса/объём) раствора коэнзима  $Q_{10}$  (действующее вещество: убихинол; вспомогательные вещества: макрогола глицерилрицинолеат, полисорбат 20, аскорбиновая кислота, динатрия эдетат, натрия хлорид, вода для инъекций) при внутривенном введении в условиях экспериментального реперфузионного повреждения миокарда крыс.

## МЕТОДИКА

Исследование выполнено с использованием в качестве биологической тест-системы, ранее успешно применяемой для оценки кардиопротекторного действия лекарственных средств [20]. Работа проведена на самцах аутбредных крыс в возрасте 15-17 недель, из которых были сформированы 9 экспериментальных групп по 12 животных: интактная, ложнооперированная – с формированием оперативного доступа для моделирования патологии, контрольная – с индукцией патологии без лечения и 6 групп крыс с индукцией патологии, получавших лечение. Все процедуры эксперимента соответствовали требованиям международных правил гуманного отношения к животным, отраженных в санитарных правилах по отбору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Формирование экспериментальных групп из животных, отвечающих критериям включения в эксперимент, проводилось при помощи метода модифицированной блочной рандомизации при помощи программного обеспечения Statistica 6.0 (США). Объектом исследования служил препарат убихинол, 1% (масса/объём) раствор в дозах 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг, 6 мг/кг, 9 мг/кг. На основании предварительных результатов исследований предполагаемой терапевтической дозой 1% раствора убихинола при внутривенном введении считалась доза 3 мг/кг. В качестве стандартного объекта использовал этилметилгидроксипиридина сукцинат (Мексидол®, “ЭПМБП”, Россия; далее Мексидол) в дозе 45 мг/кг. Введение объектов в указанных дозах производилось внутривенно двукратно: за 10 мин до и через 3 ч после реперфузии миокарда. Для анестезии при моделировании экспериментальной патологии применяли внутривенное введение раствора Золетил®100 (“Virbac”, Франция) в дозе 20 мг/кг, для дополнительной анальгезии внутримышечно вводили Кетонал® (“Lek”, Словения) в дозе 5 мг/кг. Эвтаназию экспериментальных животных проводили в два этапа: по 50% выживших животных каждой группы были эвтаназированы через 24 ч после реперфузии, остальные животные – на 7-й день после формирования патологии.

Ишемии миокарда крыс моделировали по методу Selye [21], модифицированному нами ранее [22]: сердце выводили за пределы грудной полости и накладывали лигатуру на левую

коронарную артерию, после чего сердце возвращали в грудную полость, сводили концы операционной раны и фиксировали их при помощи зажима; реперфузию миокарда осуществляли через 30 мин после начала ишемии путём удаления фиксирующей нити, после чего производили ушивание операционной раны и послеоперационный уход. Животные интактной группы были введены в общий наркоз на время, равное средней продолжительности наркотизации животных при формировании патологии. Для оценки формирования патологии и действия препаратов использовали:

1. Анализ электрокардиограммы (ЭКГ): элевация сегмента ST во II стандартном отведении (Поли-Спектр-8/В, “Нейрософт”, Россия) на наркотизированных животных (Золетил®50 (“Virbac”) 2,6 мг/кг и Рометар (“Bioveta a.s.”, Чехия) 2,6 мг/кг при внутримышечном введении) через 40 мин, 24 ч и на 7-й день после реперфузии миокарда.

2. Анализ образцов плазмы крови выполняли на биохимическом анализаторе открытого типа А-25 (“Biosystems S.A.”, Испания) через 4 ч, 36 ч и на 7-й день после формирования патологии по следующим показателям: активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) (кинетический метод – спектрофотометрия, ref. 12533, “Biosystems S.A.”); аспартатаминотрансферазы (АСТ) (кинетический метод – спектрофотометрия, ref. 12531, “Biosystems S.A.”); лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (кинетический метод – спектрофотометрия, ref. 12580, “Biosystems S.A.”); креатинкиназы (КК) (кинетический метод; ref. 12524, “Biosystems S.A.”). Определение концентрации оксида азота в плазме крови (стабильных метаболитов NO) проводили с использованием реактива Грисса и хлорида ванадия (III) в качестве восстановителя [23].

3. Гистологическое и гистохимическое исследование миокарда проводили у животных, подвергнутых эвтаназии через 24 ч после моделирования ишемии-реперфузии миокарда. Определение площади поражённой области миокарда проводили при помощи гистохимической окраски поперечных срезов сердца при помощи 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТС), результат выражали в процентах от общей площади срезов [24]. ТТС при взаимодействии с живыми тканями под действием дегидрогеназ восстанавливается до формазана, тем самым, меняя цвет ткани на красный. Ишемизированные ткани, утратившие ферментативную активность, не подвергаются окрашиванию, оставаясь бледными. После проведения окраски биологический материал фиксировали в 10% формалине (для усиления окраски). Полученные препараты наносили на стекла и фотографировали фотокамерой Canon PC1742 (“Canon”, Китай), затем анализировали при помощи программного комплекса ВидеоТест-Размер 5.0 (“ООО Видеотест”, Россия). При подготовке миокарда к гистохимическому исследованию после эвтаназии животных в CO<sub>2</sub>-камере грудная клетка была вскрыта, в левый желудочек сердца животных был введён 2% раствор синего Эванса (“Sigma-Aldrich”, США) в объёме 4 мл/кг. Через 40 с сердце извлекали

из грудной полости, промывали в физиологическом растворе и замораживали при температуре -10°C в фосфатном буфере на 24 ч. Затем сердце разделяли (в замороженном состоянии) на 3-5 поперечных кольцевых сегмента толщиной 3-5 мм, которые подвергали 15 минутной обработке 1% раствором ТТС в термостате при температуре 37°C.

Для всех данных была применена описательная статистика, межгрупповые различия анализировались с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, Statistica 6.0 (США)). Различия были определены при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Смертность животных во всех экспериментальных группах после формирования ишемии-реперфузии миокарда составила не более 20%, что не превысило ожидаемого согласно литературным данным уровня [20]. Низкий процент смертности животных был достигнут благодаря тому, что сердце при проведении лигирования коронарной артерии находилось за пределами грудной клетки не более 90 с, после чего на грудную полость накладывали зажим и обеспечивали восстановление дыхания крыс путём реанимационных процедур, что служило профилактикой гибели животного на фоне пневмоторакса. Единичные случаи гибели крыс после моделирования патологии были зафиксированы в контрольной группе и в группах введения убихинола в дозах 1 мг/кг и 9 мг/кг, Мексидола в терапевтической дозе в первые 4 ч после реперфузии миокарда по причине острого инфаркта миокарда.

По результатам биохимического анализа образцов плазмы крови животных, результатов ЭКГ, гистологического и гистохимического исследования миокарда было выявлено, что проведенное моделирование патологии позволило достигнуть типичных для реперфузионного повреждения миокарда изменений оцениваемых параметров в контрольной группе. Выявленные отличия между ложнооперированными и контрольными животными позволили определить фоновые изменения, связанные с обеспечением оперативного доступа и выводом сердца за пределы грудной клетки без развития экспериментальной патологии. Результаты биохимического анализа плазмы крови и оценки ЭКГ по параметрам с выявленной патологией представлены в таблице 1.

При анализе результатов электрокардиографии, полученных через 40 мин после формирования патологии, было отмечено увеличение амплитуды ST, как у контрольных животных, так и у всех животных, перенёсших ишемию-реперфузию миокарда. Увеличение элевации ST у ложнооперированных животных не характеризовалось статистической значимостью по сравнению с контролем. Спустя 24 ч и 7 дней после моделирования экспериментальной патологии влияния тестируемых объектов на величину ST отмечено не было, что характерно для этапа начала формирования рубцовой ткани в остром периоде инфаркта миокарда.

Таблица 1. Результаты исследования

Группа	Доза, мг/кг	Элевация ST, мм	ст. NO, мкмоль/л		АСТ, Е/л		ЛДГ, Е/л		КК, нкат/л
		40 мин	4 часа	36 часов	4 часа	36 часов	4 часа	7 дней	4 часа
Интактная	- n=12	0,02±0,002	63±2	73±8	140±9	167±11	476±29	1049±54	426±34
Контрольная	- n=10	0,09±0,003 <sup>1</sup>	178 <sup>1</sup> ±6	49 <sup>1</sup> ±3	232 <sup>1</sup> ±8	300 <sup>1</sup> ±20	1370 <sup>1</sup> ±75	1437 <sup>1</sup> ±62	3028 <sup>1</sup> ±217
Ложнооперированная	- n=12	0,05±0,004	67±2	61 <sup>1</sup> ±2	273 <sup>1</sup> ±17	269 <sup>1</sup> ±26	1369 <sup>1</sup> ±77	1115±80	1801 <sup>1,2</sup> ±224
Убихинол	1,0 n=11	0,08±0,009 <sup>1</sup>	113 <sup>1,2</sup> ±10	39 <sup>1</sup> ±4	299 <sup>1</sup> ±18	399 <sup>1</sup> ±44	1670 <sup>1</sup> ±85	2217 <sup>1,2</sup> ±33	2123 <sup>1,2</sup> ±215
	2,0 n=12	0,08±0,010 <sup>1</sup>	63 <sup>2</sup> ±6	38 <sup>1</sup> ±1	291 <sup>1</sup> ±4	268 <sup>1</sup> ±3	1587 <sup>1</sup> ±13	1630 <sup>1</sup> ±71	2151 <sup>1,2</sup> ±13
	3,0 n=12	0,07±0,005 <sup>1</sup>	41 <sup>2</sup> ±3	36 <sup>1</sup> ±1	276 <sup>1</sup> ±21	296 <sup>1</sup> ±2	1457 <sup>1</sup> ±192	1243±36	2394 <sup>1</sup> ±55
	6,0 n=12	0,08±0,006 <sup>1</sup>	74 <sup>2</sup> ±4	50 <sup>1</sup> ±1	325 <sup>1,2</sup> ±4	360 <sup>1</sup> ±16	2149 <sup>1,2</sup> ±14	1085 <sup>2</sup> ±3	2650 <sup>1</sup> ±24
	9,0 n=10	0,07±0,004 <sup>1</sup>	107 <sup>1,2</sup> ±15	51 <sup>1</sup> ±2	345 <sup>1,2</sup> ±24	372 <sup>1</sup> ±32	2240 <sup>1,2</sup> ±314	1273±6	3165 <sup>1</sup> ±232
Мексидол®	45, n=11	0,07±0,003 <sup>1</sup>	31 <sup>1,2</sup> ±2	47 <sup>1</sup> ±1	445 <sup>1,2</sup> ±10	429 <sup>1,2</sup> ±22	1447 <sup>1</sup> ±19	1321 <sup>1</sup> ±9	997 <sup>8</sup> ±26

Примечание: 1 - Статистически значимое отличие от интактной группы ( $p<0,05$ ), критерий Тьюки; 2 - Статистически значимое отличие от контрольной группы ( $p<0,05$ ), критерий Тьюки; АЛТ - аланинаминотрансфераза; АСТ - аспартатаминотрансфераза; ЛДГ - лактатдегидрогеназа; КК - креатинкиназа; ст. NO - стабильные метаболиты азота.

Биохимический анализ плазмы крови крыс через 4 ч после реперфузии миокарда у животных контрольной группы позволил выявить статистически значимое увеличение концентрации стабильных метаболитов азота и активности АСТ, ЛДГ и КК по сравнению с интактными животными.

Уровень стабильных метаболитов азота в плазме крови крыс, получавших убихинол в дозах 2-6 мг/кг, соответствовал таковому в ложнооперированной группе и был значимо ниже уровня контрольных животных. Препарат Мексидол вызвал снижение уровня стабильных метаболитов азота до уровня ниже интактного, в то же время у животных после введения убихинола в дозах 1 мг/кг и 9 мг/кг был значительно выше фонового. Через 36 ч после реперфузии во всех группах животных, перенесших реперфузию миокарда, отмечено снижение уровня стабильных метаболитов азота в сравнении как с предыдущим измерением, так и с интактной группой.

Активность АСТ через 4 ч после реперфузии увеличилась по сравнению с таковой интактной группы у всех животных, перенесших оперативное вмешательство. Однако за первые 36 ч после реперфузии у животных с наибольшей выраженностью развития инфаркта миокарда (контрольная и убихинол в дозе 1 мг/кг) активность АСТ увеличилась в среднем на 30%. Отсутствие изменений активности АСТ на протяжении эксперимента позволяет сделать вывод об эффективности убихинола в широком диапазоне доз и препарата Мексидол в терапевтической дозе.

Активность ЛДГ отличалась в группах животных интактных и перенесших операцию животных, как через 4 ч, так и через 7 дней после реперфузии миокарда. Через 7 дней у животных, перенесших формирование доступа для моделирования патологии, наблюдалась тенденция к нормализации данного показателя. Активность ЛДГ у крыс, получавших препарат убихинол в дозе 3 мг/кг, не отличалась от таковой у интактных.

Достоверное, по сравнению с контролем, снижение уровня КК было выявлено у животных, получавших убихинол в дозах 1 мг/кг и 2 мг/кг и Мексидол в терапевтической дозе. Кроме того, во всех остальных группах, получавших убихинол, наблюдали не отличающуюся статистической достоверностью тенденцию к снижению активности КК по сравнению с контрольными животными.

Результаты биохимического анализа плазмы крови на основании развития характерных изменений концентрации стабильных метаболитов азота и активности АСТ, ЛДГ и КК у животных, не получавших лечение, а также результатах анализа крови животных, получавших препарат с известной кардипротекторной активностью (Мексидол), и тестируемый препарат (убихинол) в дозах, близких к терапевтической, позволяют сделать вывод о развитии кардиопротекторного и антиоксидантного действия. В то же время результаты анализа плазмы крови через 4 ч после начала реперфузии по всем исследуемым показателям позволяют

## КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ УБИХИНОЛА ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ МИОКАРДА

сделать вывод о прооксидантной активности убихинола при применении в дозах, превышающих терапевтическую – 6 мг/кг и 9 мг/кг.

Результаты гистологического и гистохимического исследования представлены в таблице 2.

В результате воспроизведённой патологии у всех животных, за исключением интактной и контрольной групп, развился субэпикардиальный инфаркт миокарда. По локализации процесс соответствовал зоне кровоснабжения нисходящей ветви левой коронарной артерии – преимущественно задней стенки левого желудочка, в некоторых случаях с захватом задней стенки правого желудочка.

По итогам статистической обработки результатов гистохимического анализа наименьший процент ишемического повреждения миокарда относительно общей площади срезов сердца наблюдался у животных после введения убихинола в дозе 3 мг/кг и Мексидола в дозе 45 мг/кг. Увеличение процента повреждения миокарда у животных после введения убихинола в дозе 9 мг/кг косвенно свидетельствует о развитии прооксидантного эффекта.

В ходе гистологического исследования миокарда, помимо субэпикардиального инфаркта, у всех животных, за исключением интактных, ложнооперированных и получавших терапию убихинолом в дозах 2 мг/кг, 3 мг/кг, 6 мг/кг и 9 мг/кг, были зафиксированы единичные случаи трансмурального инфаркта.

Суммарные результаты гистохимического и гистологического исследования миокарда позволяют сделать вывод о высокой кардиопротекторной активности убихинола в дозе 3 мг/кг и потенциальном кардиопротекторном эффекте убихинола в дозах, наиболее близких к терапевтической – 2 мг/кг и 6 мг/кг.

### ОБСУЖДЕНИЕ

При восстановлении коронарного кровотока после кратковременной ишемии миокарда развивается “синдром реперфузии”, характеризующийся дополнительным повреждением миокарда вследствие неспособности энергетической системы кардиомиоцита

утилизировать “нахлынувшее” поступление кислорода. Критерии оценки реперфузионного повреждения миокарда традиционно основываются на определении признаков выраженности цитолиза. В качестве биохимических маркеров в данном исследовании изучали активность ферментов АСТ, АЛТ, ЛДГ, КК и содержание стабильных метаболитов азота в плазме крови. В результате проведенного исследования было доказано влияние убихинола в дозах 2 мг/кг, 3 мг/кг, 6 мг/кг на нормализацию уровня АЛТ, КК, стабильных метаболитов азота и ЛДГ в первые 36 ч после моделирования патологии. Полученные результаты соответствуют литературным данным: активность сывороточной АСТ при возникновении ишемии миокарда у человека становится выше нормы через 6-12 ч, достигает максимума через 18-36 ч и возвращается к исходному уровню к 3-4 дню после возникновения патологии. Продолжительность гиперферментемии АСТ прямо пропорциональна степени максимального повышения [25]. КК повышается к 4-8 ч, достигает максимума на 1-2 сутки и снижается до исходного уровня к 3-5 суткам после заболевания. Оксид азота, способный вырабатываться кардиомиоцитами, в случае ишемии миокарда оказывает влияние на процесс перекисного окисления липидов и нормализует структуру сосудистой стенки. [26]. NO очень нестабилен, полупериод жизни молекулы составляет не более нескольких секунд, в кровяном русле он инактивируется гемоглобином или кислородом с образованием нитрита и нитрата, поэтому определяется в крови недолговременно. В ходе эксперимента также было выявлено, что на 7-й день после моделирования ишемии-реперфузии миокарда активность ЛДГ отличалась в группах, перенесших операцию, и у интактных животных, наблюдалась тенденция к нормализации данного показателя. Активность ЛДГ у животных, получавших убихинол в дозе 3 мг/кг, не отличалась от интактных. В целом, результаты биохимического анализа крови не противоречат характерным для данной патологии изменениям, что доказывает кардиопротекторное действие

Таблица 2. Результаты оценки повреждения миокарда

Группа	Результаты гистохимического исследования		Результаты гистологического исследования (всего/из)	
	количество измерений / количество животных	% поражения миокарда	Субэпикардиальный инфаркт миокарда	Трансмуральный инфаркт
Интактная	24/6	0	0/6	0/6
Ложнооперированная	24/6	0	0/6	0/6
Контрольная	20/5	30±8*	4/5	1/5
Убихинол, 1 мг/кг	24/6	29±6*	4/5	1/5
Убихинол, 2 мг/кг	24/6	18±4*	6/6	0/6
Убихинол, 3 мг/кг	24/6	14±3	6/6	0/6
Убихинол, 6 мг/кг	24/6	21±2*	6/6	0/6
Убихинол, 9 мг/кг	20/5	32±3*	5/5	0/5
Мексидол®, 45 мг/кг	24/6	13±4	4/5	1/5

Примечание: \* - статистическое значимое отличие от интактной группы (p<0,05), критерий Тьюки.

убихинола в терапевтической дозе и соответствуют литературным данным: активность ЛДГ постепенно нарастает в течение первых 24-48 ч после ишемии миокарда, достигает максимума на 2-3-й день, сохраняется высокой в течение 5-10 дней [27].

Развитие прооксидантного эффекта на фоне введения убихинола в дозах, превышающих терапевтическую (6 мг/кг и 9 мг/кг), характерно для большинства антиоксидантов и согласуется с литературными данными [28], описывающими отсутствие положительного влияния антиоксидантов, применяемых в экстремальных дозах в течение длительного времени. К основным факторам, определяющим возможность инверсии антиоксидантных свойств, относятся концентрация самого антиоксиданта, концентрация и химическая структура субстрата окисления и наличие в реакционной среде катионов металлов переходной валентности, в том числе в клетках и тканях органов [29, 30]. Механизмы гибели клеток при необратимой ишемии и ишемии-реперфузии отличаются: при ишемии первостепенное значение придают метаболическим нарушениям, при реперфузии – свободнорадикальному поражению и генерализованному воспалению. Несмотря на это, инфаркт миокарда, возникающий при реперфузионном повреждении, сохраняет характерную для ишемического повреждения последовательность патологических изменений: в первые часы после моделирования у крыс развивается отёк стромы и межклеточных пространств миокарда, неравномерное полнокровие, стаз в капиллярах, обширные кровоизлияния в зоне некроза, утрата поперечной исчерченности, набухание ядер кардиомиоцитов. Через 6-12 ч после моделирования происходит фрагментация и гомогенизация отдельных мышечных волокон, кариолизис, эозинофилия цитоплазмы, инфильтрация зоны инфаркта клеточными элементами, среди которых преобладают нейтрофилы, лимфоциты и макрофаги. Через 24 ч после формирования экспериментальной патологии отмечается уменьшение количества нейтрофилов и преобладание сидерофагов, далее начинается процесс неоваскуляризации, и к 7-м суткам в зоне некроза отмечается замещение некротизированных мышечных волокон молодой соединительной тканью. По сумме результатов гистохимического и гистологического исследования миокарда экспериментальных животных, на основании локализации и типов очагов инфаркта и площади ишемизированного участка миокарда, был сделан вывод о высокой кардиопротекторной активности убихинола в дозе 3 мг/кг и Мексидола в терапевтической дозе.

Реперфузия миокарда вызывает характерные колебания сегмента ST: снижение элевации ST в отведении с наибольшей подъёмом через 1,5 ч от начала реперфузии достигает 50% от максимального подъёма. На фоне применения убихинола в дозе 3 мг/кг и Мексидол в дозе 45 мг/кг через 40 мин после реперфузии было отмечено достоверное снижение элевации ST по сравнению с контрольной группой животных.

Таким образом, в ходе данной работы на фоне успешно воспроизведённой модели ишемии/реперфузии миокарда, было доказано влияние препарата сравнения (Мексидол) в дозе 45 мг/кг на определяемые показатели, что ещё раз подтверждает адекватность воспроизведённой патологии. Наиболее эффективное кардиопротекторное действие, сопоставимое, либо превышавшее таковое для стандартного препарата (Мексидол), оказал препарат убихинол в дозе 3 мг/кг.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

В результате проведенного доклинического исследования фармакологической активности препарата кофермента Q<sub>10</sub> и референтного препарата (Мексидол) на модели реперфузионного повреждения миокарда крыс была установлена фармакологическая активность убихинола в дозе 3 мг/кг и прооксидантная активность убихинола в дозе 9 мг/кг.

1% раствор убихинола для внутривенного введения в терапевтических дозах показал свою эффективность в отношении таких параметров, как активность креатинкиназы, концентрация свободных метаболитов азота, элевация сегмента ST при электрокардиографии во втором отведении, площадь поражения миокарда. 1% раствор убихинола и препарат Мексидол показали высокую кардиопротекторную активность, соответствующую их механизму действия. Наиболее эффективными в условиях экспериментальной патологии является препарат убихинол, 1% раствор, в дозе 3 мг/кг, кардиопротекторный эффект которого сопоставим, либо превышает таковой для препарата сравнения (Мексидол) в терапевтической дозе. Введение убихинола в дозе 9 мг/кг усугубило развитие реперфузионного повреждения миокарда.

По совокупности полученных данных, препарат убихинол в терапевтической дозе (3 мг/кг) при внутривенном введении является перспективным для коррекции реперфузионного повреждения миокарда.

## ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVD) (2015) Bulletin No. 317. Jan. [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>]
2. Бабаджанова З.Х., Кадырова Ш.С., Саидова М.М., Жалилова Ж.Ж. (2015) Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, **52**, 150-152.
3. Shen A.C., Jennings R.B. (1972) Am. J. Pathol., **67**(3), 417.
4. Шилов А.М. (2007) Инфаркт миокарда (Патофизиологические и клинические аспекты), М.: Миклош, 186 с.
5. Hansen P.R. (1995) Circulation, **91**(6), 1872-1885.
6. Halestrap A.P., Clarke S.J., Javadov S.A. (2004) Cardiovascular Res., **61**(3), 372-385
7. Ibrahim W.H. (2000) J. Nutr., **130**(9), 2343-2348.
8. Перепонов Ю.П. (2011) Русский медицинский журнал, **19**(4), 244-247.

9. Калатанова А.В., Макаренко И.Е., Гуцин Я.А., Фаустова Н.М. (2017) Медицинский академический журнал, **16**(4), 23-24.
10. Ivanov A.V., Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Medvedev O.S. (2013) Bull. Exper. Biol. Med., **155**(6), 771-774.
11. Littarru G.P., Tiano L. (2007) Molecular Biotechnology, **37**(1), 31-37.
12. Crane F.L. (2001) J. Am. Coll. Nutr., **20**(6), 591-598.
13. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. (2014) Вестник Смоленской государственной медицинской академии, **13**(4), 24-33.
14. Li G., Zou L.Y., Cao C.M., Yang E.S. (2005) Biofactors, **25**(1/4), 97-107.
15. Кучменко Е.Б., Петухов Д.Н., Донченко Г.В., Мхитарян Л.С., Тимошук С.В., Струтинская Н.А., Вавилова Г.Л., Сагач В.Ф. (2010) Биомед. химия, **56**, 244-256.
16. Ковалева М.А., Селезнева А.И., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Забозлаев А.А., Дьячук Г.И. (2012) Профилактическая и клиническая медицина, **4**, 81-84.
17. Hosoe K., Kitano M., Kishida H., Kubo H., Fujii K., Kitahara M. (2007) Regulatory Toxicol. Pharmacol., **47**(1), 19-28.
18. Kalenikova E.I., Kharitonova E.V., Gorodetskaya E.A., Tokareva O.G., Medvedev O.S. (2014) Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry, **8**(3), 267-272.
19. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Куляк О.Ю., Козаева Л.П., Макаров В.Г., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Медведев О.С. (2017) Хим.-фарм. журнал, **51**(11), 3-7.
20. Смольякова В.И., Чернышева Г.А., Плотников М.Б., Алиев О.И., Краснов Е.А. (2010), Кардиология, **11**, 47-49.
21. Selye H. (1960) Angiology, **2**, 398-407.
22. Калатанова А.В., Гуцин Я.И., Фаустова Н.М., Ванатиев Г.В., Макаров В.Г. (2016) Материалы IV-го международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов "Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии", **1**, 83-86.
23. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. (2005) Клиническая лабораторная диагностика, **6**, 15-18.
24. Wang S. (2015) J. Translational Med., **13**(1), 209.
25. Карпищенко А.И., Бутко А.Л., Принцев Я.Д. (1997) Инфаркт миокарда, Медицинская лабораторная диагностика (Карпищенко А.И., ред.), С-Пт, 21-29.
26. Пархоменко А.Н., Иркин О.И., Лутай Я.М. (2011) Медицина неотложных состояний, **7**, 38-39.
27. Lott J.A., Stang J.M. (1980) Clin. Chem., **26**(9), 1241-1250.
28. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. (2013) Современные проблемы науки и образования, **82**(3), 11-18.
29. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. (2008) Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск, 284 с.
30. León-González A.J., Auger C., Schini-Kerth V.B. (2015) Biochem. Pharmacol., **98**(3), 371-380.

Поступила: 10. 10. 2017.  
Принята к печати: 19. 03. 2018.

## EVALUATION OF THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF UBIQUINOL ON THE MODEL OF REPERFUSION INJURY OF RAT MYOCARDIUM

*A.V. Kalatanova<sup>1</sup>, V.G. Makarov<sup>1</sup>, N.M. Faustova<sup>2</sup>, Ya.I. Gushchin<sup>3</sup>, M.N. Makarova<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>ICJSC "Saint-Petersburg Institute of Pharmacy",  
Kuzmolovskiy, 3-245, Leningradskaya reg., Vsevolozhskiy distr., 188663 Russia; e-mail: kalatanova.av@doclinika.ru  
<sup>2</sup>CJSC "Institute of experimental pharmacology", Leningradskaya reg., Russia,  
<sup>3</sup>JSC "Research-and-manufacturing company "HOME OF PHARMACY", Leningradskaya reg., Russia

The cardioprotective effect of ubiquinol on the model of myocardium reperfusion injury in rats was investigated. The study was carried out using mature males of outbred rats. Myocardial ischemia-reperfusion injury was performed after 30-minute ligation of the left coronary artery followed by reperfusion. The main criteria for assessing the development of pathology included the results of electrocardiography, biochemical analysis of blood plasma, histological and histochemical study of the myocardium. Development of the reperfusion damage of the myocardium caused specific changes in non-treated animals. The best therapeutic effect on biochemical indices was provided by a drug with the known cardioprotective activity – Mexidol® and the tested object ubiquinol at doses of 2-6 mg/kg. Evaluation of the results of electrocardiography allowed to confirm the development of ischemic myocardial damage in all groups. The results of histochemical and histological examination of the myocardium suggest a high cardioprotective activity of ubiquinol at a dose of 3 mg/kg and a potential cardioprotective effect of ubiquinol in doses closest to the therapeutic doses of 2 and 6 mg/kg. Ubiquinol is a dose 9 mg/kg showed signs of prooxidant activity, manifested in the form of aggravation of reperfusion injury of the myocardium. The most effective in the conditions of experimental pathology is 1% solution of ubiquinol, at a dose of 3 mg/kg, whose cardioprotective effect is comparable or higher than that for the reference drug Mexidol® at the therapeutic dose. In doses that are greater than therapeutic ubiquinol is able to act as a pro-oxidant.

**Key words:** ubiquinol, preclinical study, reperfusion damage to myocardium, rats