

С.В. Тімошук, Г.Л. Вавілова, Н.А. Струтинська, С.А. Таланов, Д.М. Петухов,
О.Б. Кучменко, Г.В. Донченко, В.Ф. Сагач

Кардіопротекторна дія коензиму Q за умов активації ендогенного його синтезу при ішемії–реперфузії серця у старих щурів

Досліджували зміни функціонального стану ізольованого за Лангендорфом серця старих щурів з низьким вмістом убіхінону – коензиму Q (КоQ) в умовах активації in vivo його біосинтезу за допомогою курсового введення per os тваринам попередників – параоксисбензойної кислоти, метіоніну та модулятора вітаміна E. Активація ендогенного синтезу убіхінону сприяла кардіопротекторній дії внаслідок зниження ступеня реперфузійних ушкоджень ішемізованого серця щурів, а саме відновленню скоротливої функції міокарда та коронарного потоку, а також зменшенню кінцевого діастолічного тиску і кисневої вартості роботи серця у порівнянні з контрольною групою тварин при ішемії–реперфузії. Таким чином, отримані результати дають можливість зробити висновок, що введення попередників біосинтезу КоQ сприяло протекторній дії щодо розвитку постреперфузійних ушкоджень ішемізованого серця при старінні.

Ключові слова: серце, ішемія–реперфузія, коензим Q, старі щури.

ВСТУП

Ішемія–реперфузія часто є причиною порушень функціонального стану серця, в кардіоміоцитах підвищується вміст іонів кальцію, субстратів перекисного окиснення ліпідів і вільних радикалів кисню та азоту. Кардіоміоцити здатні попереджати оксидативний стрес завдяки функціонуванню антиоксидантної ферментної системи, а також дії убіхінону – коферменту Q (КоQ), який як потужний антиоксидант обмежує процеси перекисного окиснення мембран [8] і захищає ДНК [18], білки мітохондрій [17] від пошкоджувальних дій вільних радикалів.

Убіхінон як внутрішньоклітинний регулятор виконує ще й низку важливих біохімічних функцій [19]. Так, насамперед КоQ є структурно-функціональним компонентом дихального ланцюга мітохондрій і, таким

чином, бере участь у окисному фосфорилюванні, яке призводить до синтезу аденозинтрифосфату (АТФ) у цих органелах. Крім того, КоQ стимулює клітинний ріст і попереджає загибель клітин [10].

Зниження вмісту КоQ з віком, а також при захворюваннях серцево-судинної системи вказує на важливу роль цього ендогенного регулятора в попередженні передчасного порушення функціонального стану серця [15]. Так, зменшення вмісту КоQ на 25 % призводить до дефіциту енергії в клітинах, що супроводжується порушенням біоенергетичного метаболізму в серцевому м'язі, а на 75 % – до загибелі клітин [12]. Слід відмітити, що вміст КоQ в міокарді значно вищий у порівнянні з іншими органами [6].

Синтез убіхінону в клітинах тканин – процес складний і залежить від багатьох факторів, які впливають на нього. Порушен-

© С.В. Тімошук, Г.Л. Вавілова, Н.А. Струтинська, С.А. Таланов, Д.М. Петухов, О.Б. Кучменко, Г.В. Донченко, В.Ф. Сагач

ня ендогенного синтезу КоQ може відбуватися за умов нестачі вітамінів, насамперед таких, як вітамін Е, а також мікроелементів і інших біологічно активних речовин, необхідних для його біосинтезу [9]. Оскільки останній в організмі людини та тварин порушується при стресових ситуаціях, різноманітних хворобах і фізіологічному старінні, існує потреба пошуку шляхів підвищення в забезпеченості організму КоQ [17]. Є декілька засобів поповнення внутрішньоклітинного пулу КоQ, як за рахунок надходження його в організм ззовні, так і через активацію ендогенного його синтезу.

Раніше нами було показано, що в умовах активації ендогенного синтезу КоQ за допомогою курсового введення тваринам попередників, його вміст значно підвищувався порівняно з контрольними щурами [4].

Метою нашої роботи було дослідити вплив реперфузійних порушень на показники функціонального стану ізольованого ішемізованого серця старих щурів в умовах активації ендогенного синтезу коферменту Q за допомогою курсового введення тваринам попередників його біосинтезу – параоксибензойної кислоти (ПОБК), амінокислоти метіоніну як донора метильних груп і модулятора – вітаміну Е.

МЕТОДИКА

В експериментах використовували старих білих щурів-самців лінії Вістар масою 400–550 г віком 24 міс, яких утримували на стандартному раціоні віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Дослідження проведені з урахуванням Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних цілей (Страсбург, 1986).

Тварин було поділено на 2 групи: 1-ша група (контроль) – інтактні; 2-га група (дослідна) – старі тварини, яким протягом

10 діб вводили per os за допомогою зонда комплекс біологічно активних сполук – розчинений у рослинній олії α -токоферол-ацетат (вітамін Е) – модулятор біосинтезу КоQ, ПОБК та амінокислоту метіонін як донора метильних груп [1].

На ізольованих серцях за методом Лангендорфа досліджували скорочувальну функцію серця. Перфузію коронарних судин здійснювали ретроградно через аорту з постійним тиском 75–80 мм рт. ст. при 37°C розчином Кребса–Хензелята такого складу (ммоль/л): NaCl – 118; KCl – 4,7; MgSO₄ – 1,2; NaHCO₃ – 24; KH₂PO₄ – 1,2; глюкоза – 10; CaCl₂ – 2,5; pH 7,4). Перфузійний розчин безперервно аерували карбогеном (95 % O₂ і 5 % CO₂). У порожнину лівого шлуночка вставляли поліетиленовий балончик, з'єднаний з тензодатчиком. Після 20-хвилинного періоду стабілізації серця проводили 30-хвилинну ішемію повним перекриванням перфузійного потоку з наступною реперфузією впродовж 40 хв. Стан скоротливої функції міокарда оцінювали за змінами значень тиску, який розвивав лівий шлуночок (Рлш), швидкісних показників скорочення (dP/dtmax і dP/dtmin) і кінцевого діастолічного тиску (КДТ). Коронарний потік (КП) оцінювали за об'ємом перфузійного розчину, який відтікав від серця протягом 1 хв. Кисневу вартість роботи серця розраховували як відношення поглинання кисню до роботи серця, яку розраховували як добуток частоти скорочень на силу, що розвивається міокардом. Для визначення споживання кисню працюючим серцем у вихідному стані та через кожні 10 хв реперфузії вимірювали парціальний тиск кисню за допомогою газоаналізатора BMS-3 Mk2 ("Radioometer", Данія) у перфузійному розчині, що притікав і відтікав від серця.

Отримані результати обробляли статистично з використанням програм Origin 7.0 та Excel 2000. При цьому вірогідність відмінностей визначали за критерієм t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У попередніх наших дослідженнях з визначення вмісту КоQ в мітохондріях серця старих щурів, яким вводили попередники та модулятор вітамін E біосинтезу КоQ, було продемонстровано підвищення його вмісту на 68 % порівняно зі старими контрольними тваринами [4].

На ізольованому за Лангендорфом серці тварин дослідної групи спостерігали тенденцію до збільшення таких показників функціонального стану, як скорочувальна функція міокарда, коронарний потік, а також до зменшення кінцевого діастолічного тиску і кисневої вартості роботи серця порівняно з контрольними тваринами.

На рис. 1,а показано, що Рлш на 5-й хвилині реперфузії ішемізованого серця старих щурів після введення їм попередників біосинтезу КоQ становив (43±7) мм рт.ст., в той час як у контрольних тварин – (24±3) мм рт.ст. (P<0,05), а на 40-й хвилині реперфузії цей показник відновлювався до (64±3) мм рт.ст. і лише до (40±5) мм рт.ст. у контрольних тварин відносно вихідного рівня (P<0,05).

Відомо, що під час ішемії КДТ підвищується, і це зумовлено зниженням запасів

АТФ. Однак у дослідних тварин цей показник був суттєво менший, ніж у групі контрольних щурів. Для тварин після введення їм попередників біосинтезу коензиму Q КДТ на 5-й хвилині реперфузії після 30 хв ішемії серця становив (29±7) мм рт.ст., а для контрольних тварин – (34±5) мм рт.ст. Після 40-ї хвилини реперфузії у дослідних тварин спостерігали тенденцію до зниження цього показника (14±1) мм рт.ст., тоді як у контрольних тварин – лише до (21±2) мм рт.ст. (див. рис. 1,б)

Показники скорочувальної активності міокарда dP/dtmax і dP/dtmin на 40-й хвилині реперфузії ішемізованого серця щурів дослідної групи становили 67±4,74 та 58 % ± 5,46 % відповідно відносно вихідного рівня щодо 48±5,82 та 45 % ± 4,51 % у контрольних тваринах (рис. 2).

КП у дослідних тварин до ішемії становив 12,3 мл/хв ± 1,8 мл/хв, а у контрольних тварин – 10,8 мл/хв + 1,4 мл/хв (рис. 3). Впродовж реперфузії ішемізованого серця цей показник поступово знижувався в обох групах щурів. Однак протягом усіх часових проміжків під час реперфузії КП у тварин дослідної групи перевищував значення у контрольних щурів.

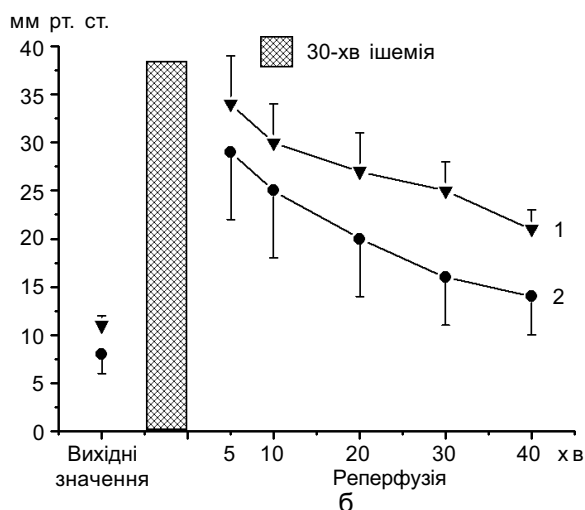
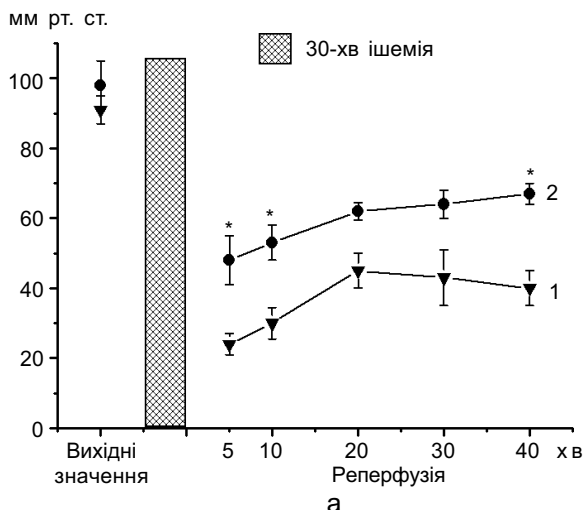


Рис. 1. Вплив ішемії-реперфузії на тиск, який розвивав лівий шлуночок (а), кінцевий діастолічний тиск (б) у серці контрольних щурів (1) та у тварин після введення їм попередників біосинтезу коензиму Q (2) (n=7). * P<0,05 порівняно з контролем

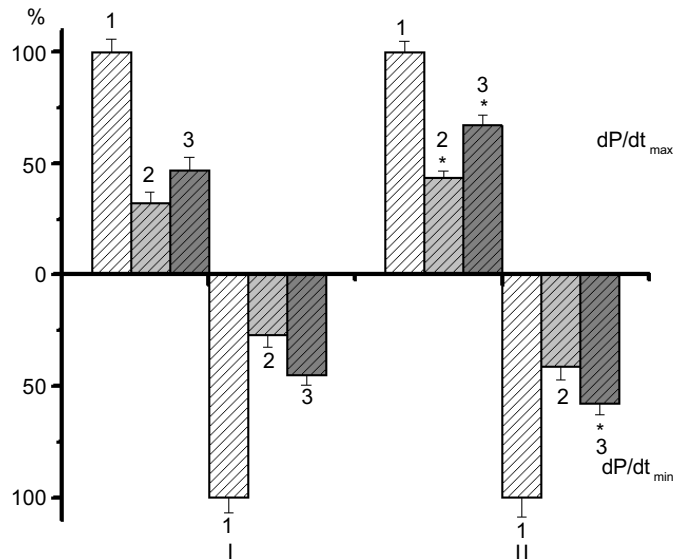


Рис. 2. Вплив ішемії–реперфузії на скорочувальну активність міокарда щурів (I) та після введення попередників біосинтезу коензиму Q (II) (n=7): 1 – вихідні значення 2 – 5 хв реперфузії, 3 – 40 хв реперфузії. * P<0,05 порівняно з контролем

Таким чином, пригнічення скорочувальної функції серця і зменшення КП у тварин дослідної групи було менш виражене під час ішемії–реперфузії порівняно з контрольними тваринами.

За останній період значно збільшилася кількість досліджень щодо ролі оксидативного стресу в патогенезі серцево-судинних захворювань, а також з'ясування

механізмів коригувальної дії антиоксидантів [11]. Так, на ізольованих серцях щурів в умовах оксидативного стресу, який викликали внутрішньокоронарним введенням пероксиду водню, було показано значення CoQ_{10} у підвищенні резистентності міокарда до оксидативного стресу як внаслідок його антиоксидантної дії, так і завдяки підвищенню функціональної активності антиоксидантних ферментів [2].

Раніше в дослідях на ізольованому за Лангендорфом серці було показано, що попереднє одноразове перед ішемією міокарда введення препарату CoQ_{10} (10 мг/кг) морським свинкам призводило до зменшення ступеня реперфузійних порушень функції ішемізованого серця. Одним із механізмів протекторної дії CoQ_{10} є його здатність пригнічувати відкривання мітохондріальної пори під час реперфузії ішемізованого серця [3]. Крім того, захисну дію убіхінону, зокрема, в умовах ішемії–реперфузії серця пов'язують з його здатністю певною мірою відновлювати ультраструктуру мембран і метаболізм кардіоміоцитів [14].

Споживання міокардом кисню є важливим показником ефективності функціо-

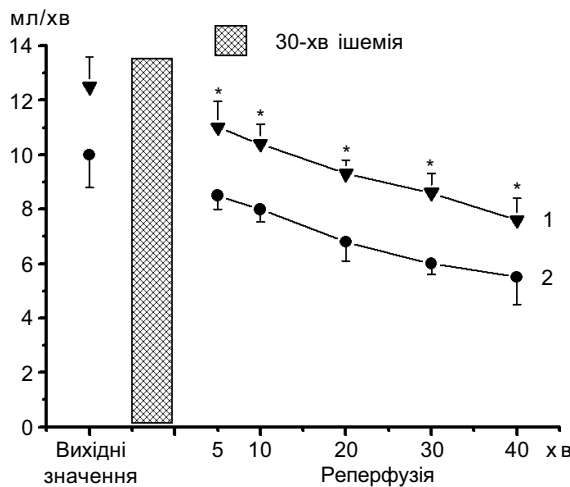


Рис.3. Вплив ішемії–реперфузії на коронарний потік у серці контрольних тварин (1) та у тварин після введення попередників біосинтезу коензиму Q (2) (n=7). * P<0,05 порівняно з контролем

нування дихального ланцюга мітохондрій, порушення якого супроводжується утворенням активних форм кисню і призводить до змін функціонального стану серця.

Киснева вартість роботи серця до ішемії у дослідній групі тварин була меншою на 24 % порівняно з контрольними тваринами (рис. 4). На 40-й хвилині реперфузії ішемізованого серця щурів після введення попередників активації біосинтезу КоQ цей показник зростає лише на 32 %, в той час як у контрольних тварин – на 58 % відносно вихідних значень. Активація ендогенного синтезу убихінону сприяє зменшенню кисневої вартості роботи серця у старих щурів, що свідчить про покращення функціонування роботи дихального ланцюга в мітохондріях після ішемії–реперфузії серця.

У наших експериментах на 40-й хвилині реперфузії ішемізованого серця щурів в умовах введення їм попередників активації біосинтезу КоQ різниця між значеннями кисневої вартості серця у контрольній та дослідній групах тварин становила 26 %, на відміну від такої з використанням препарату КоQ₁₀ (19 %).

Результати проведених нами попередніх досліджень свідчать, що в умовах активації

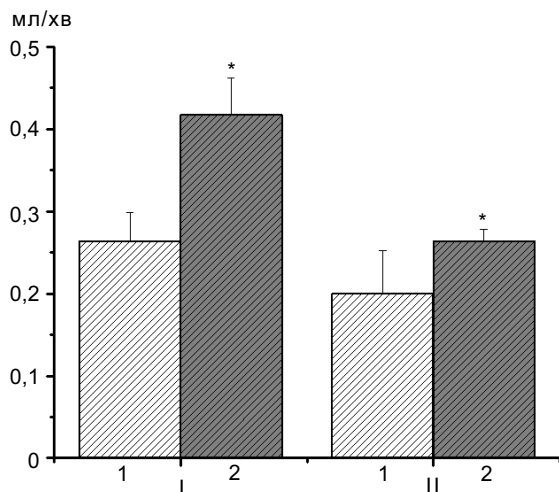


Рис. 4. Зміни кисневої вартості роботи серця протягом ішемії–реперфузії серця у контрольних тварин (I) та в умовах введення попередників біосинтезу КоQ (II): 1 – вихідні значення; 2 – 40 хв реперфузії ішемізованого серця (n=7). * P<0,05 порівняно з контролем

ендогенного біосинтезу убихінону підвищується його вміст в мітохондріях серця старих щурів [4], і це, як видно, позитивно позначається на реперфузійних порушеннях ішемізованого серця старих тварин.

Таким чином, активація ендогенного синтезу КоQ за допомогою введення старим щурам його попередників спричиняла протекторну дію на розвиток постреперфузійних порушень функціонального стану ішемізованого серця, створюючи певну резистентність міокарда до ішемії–реперфузії.

**С.В. Тимошук, Г.Л. Вавилова,
Н.А. Струтинская, С.А. Таланов,
Д.М. Петухов, О.Б. Кучменко, Г.В. Донченко,
В.Ф. Сагач**

КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОЕНЗИМА Q В УСЛОВИЯХ АКТИВАЦИИ ЭНДОГЕННОГО ЕГО СИНТЕЗА ПРИ ИШЕМИИ–РЕПЕРФУЗИИ СЕРДЦА СТАРЫХ КРЫС

Исследовали изменения функционального состояния изолированного по Лангендорфу сердца старых крыс с низким содержанием убихинона – коэнзима Q (КоQ) в условиях активации *in vivo* его биосинтеза путем курсового введения *per os* животным предшественников – параоксибензойной кислоты, метионина и модулятора витамина E. Активация эндогенного синтеза убихинона способствовала проявлению кардиопротекторного действия за счет снижения степени реперфузионных нарушений функций ишемизированного сердца крыс, а именно, восстановлению сократительной функции миокарда и коронарного потока, а также уменьшению конечного диастолического давления и кислородной стоимости работы сердца по сравнению с контрольной группой животных при ишемии–реперфузии. Таким образом, полученные результаты исследований дают возможность заключить, что введение предшественников биосинтеза КоQ оказывало протекторное действие на развитие постреперфузионных нарушений ишемизированного сердца при старении.

Ключевые слова: сердце, ишемия–реперфузия, коэнзим Q, старые крысы.

**S.V. Timoshchuk, G.L. Vavilova,
N.A. Strutynska, S.A. Talanov, D.M. Petukhov,
O.B. Kuchmenko, H.V. Donchenko, V.F. Sagach**

CARDIOPROTECTIVE ACTION OF THE COENZYME Q UNDER ACTIVATION OF ITS

ENDOGENOUS SYNTHESIS DURING ISCHEMIA-REPERFUSION IN OLD RAT HEART

The changes of functional state isolated by Lanhendorf old rat hearts with low content of ubiquinone - coenzyme Q (CoQ) under activation of it endogenous synthesis through administration of precursors – 4-hydroxybenzoic acid, methionine and modulator vitamin E were studied. The activation of ubiquinone biosynthesis contribute to cardioprotective effect due to reduce the degree of the ischemia-reperfusion injury in old rat heart, namely the restoration of myocardial contractile function and coronary flow as well as decrease the end diastolic pressure and oxygen cost of the heart compared with control group of the animals during ischemia-reperfusion. Thus the results allow to conclude that the activation of KoQ biosynthesis under administration of it precursors has protective effect in the development of the heart postreperfusion damages in aging.

Key words: heart, ischemia-reperfusion, coenzyme Q, aging

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кучменко О.Б., Петухов Д.М., Донченко Г.В. Дія адреаміцину на біоенергетичні процеси в тканинах печінки та серця шурів і її корекція попередниками та модуляторами біосинтезу убіхінону // Доп. НАН України. – 2007. – № 12. – С.167–172.
2. Лакомкин В.Л., Коновалова Г.Г., Каленикова Е.И. и др. Изменение антиоксидантного статуса миокарда под влиянием коэнзима Q10 при окислительном стрессе // Биохимия. – 2005. – 70, №1. – С. 97–104.
3. Сагач В.Ф., Вавілова Г.Л., Рудик О.В. та ін. Інгібування мітохондріальної пори як один із механізмів кардіопротекторної дії коензиму Q10 // Фізіол. журн. – 2007. – 53. – №4. – С. 35–42.
4. Тимошук С.В., Вавілова Г.Л., Струтинська Н.А., Кучменко О.Б., Петухов Д.М. Донченко Г.В. Сагач В.Ф. Вплив попередників біосинтезу убіхінону *in vivo* на чутливість відкривання мітохондріальної пори у серці старих шурів // Там само. – 2008. – 54, №3. – С.3–9.
5. Halestrap A.P. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die // Biochem. Soc. Trans. – 2006. – 34. – P. 232–237.
6. Aberg F., Appelkvist E.L., Dallner G., Ernster L. Distribution and redox state of ubiquinones in rat and human tissues // Arch. Biochem. Biophys. – 1992. – 295. – P. 230–234.
7. Ernst A., Stolzing, A., Sandig G., Grune T. Antioxidants effectively prevent oxidation-induced protein damage in OLN 93 cells // Ibid. – 2004. – 421. – P. 54–60.
8. Glinn M.A., Lee C.P., Ernster L. Pro- and anti-oxidant activities of the mitochondrial respiratory chain: factors influencing NAD(P)H-induced lipid peroxidation // Biochim. and Biophys. Acta. – 1997. – 1318. – P. 246–254.
9. Linnane A.W., Eastwood H. Cellular redox poise modulation; the role of coenzyme Q10, gene and metabolic regulation // Mitochondrion. – 2004. – 4. – P. 779–789.
10. Papucci L., Schiavone N., Witort E. et al Coenzyme Q10 prevents apoptosis by inhibiting mitochondrial depolarization independently of its free radical scavenging property // J. Biol. Chem. – 2003. – 278. – P. 28220–28228.
11. Pepe S., Marasco S. F., Haas S. J. et al. Coenzyme Q10 in cardiovascular disease// Mitochondrion. – 2007. – 7S. – P. 154–167.
12. Rosenfeldt F.L., Pepe S., Linnane A. et al. Coenzyme Q10 protects the aging heart against stress: studies in rats, human tissues, and patients //Ann. NY Acad. Sci. – 2002. – 959. – P. 355–359.
13. Sarter B. Coenzyme Q10 and cardiovascular disease: a review // J. Cardiovasc. Nurs. – 2002. – 16, №4. – P. 9–20.
14. Serra G., Lissoni F., Piemonti C, Mazzola C. Evaluation of CoQ10 in patients with moderate heart failure and chronic stable effort angina // Biomed. and Clinic. Asp. Coenz. Q. – 1991. – 6. – P.327–338.
15. Sohal R.S., Forster M.J. Coenzyme Q, oxidative stress and aging // Mitochondrion. – 2007. – 7S. – P.103–111.
16. Sorter B. Coenzyme Q10 and cardiovascular disease: a review // J. Cardiovascular. Nurs. – 2002. – 16. – № 4. – P. 9–20.
17. Thomas S.R., Leichtweis S.B., Pettersson K. et al. Dietary cosupplementation with vitamin E and coenzyme Q (10) inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E gene knockout mice // Arterioscler. Thromb. and Vascular. Biol. – 2001. – 21, №4. – P. 585–593.
18. Tomasetti M., Littarru G.P., Stocker R. et al. Coenzyme Q10 enrichment decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes // Free Radic. Biol. Med. – 1999. – 27. – P. 1027–1032.
19. Turunen M., Olsson J., Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q // Biochim. and Biophys. Acta. – 2004. – 1660. – P. 171–199.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: sne-timoschuk@inbox.ru

Матеріал надійшов до редакції 26.02.2009