

Исследование антиоксидантного эффекта митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на модели изолированного сердца крысы

Е. А. Сенокосова^{1*}, С. С. Крутицкий¹, О. В. Груздева¹, Л. В. Антонова¹, М. В. Скулачев², Е. В. Григорьев¹

¹ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Россия, 650002, г. Кемерово, Сосновый б-р, д. 6

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского, Россия, 119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

Для цитирования: Е. А. Сенокосова, С. С. Крутицкий, О. В. Груздева, Л. В. Антонова, М. В. Скулачев, Е. В. Григорьев. Исследование антиоксидантного эффекта митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на модели изолированного сердца крысы. *Общая реаниматология*. 2022; 18 (4): 36–44. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2022-4-36-44> [На русск. и англ.]

Резюме

Митохондриально-направленные антиоксиданты на основе ионов Скулачёва (SkQ1) крайне привлекательны для нейтрализации активных форм кислорода непосредственно в матриксе митохондрий.

Цель — изучить антиоксидантный и кардиопротективный эффект митохондриально-направленного антиоксиданта — SkQ1 на модели ишемии и реперфузии изолированного сердца крысы в условиях холодовой кардиоплегии.

Материалы и методы. Исследование эффектов SkQ1 (1200 нг/мл, 120 нг/мл, 12 нг/мл) провели на изолированных сердцах крыс линии Wistar ($n=50$) в условиях 240-минутной холодовой кардиоплегии. Оценили уровень окислительного стресса, динамику маркеров повреждения миокарда (классические и высокоспецифичные) и функцию сердечной мышцы (скорость коронарного протока, частоту сердечных сокращений, систолическое давление).

Результаты. Использование SkQ1 в концентрации 12 нг/мл привело к статистически значимой нейтрализации проявлений окислительного стресса ($p<0,05$): минимальное содержание NO-метаболитов — нитратов и нитритов (36,2 [30,8; 39,8] мкмоль/мл) поддерживалось на доишемическом уровне всю 30-минутную реперфузию, а концентрация малонового диальдегида (49,5 [41,1; 58,9] мкмоль/г) была ниже в сравнении с применением SkQ1 в концентрации 120 нг/мл. Вследствие «смягчения» окислительного стресса внутриклеточные ферменты и высокоспецифичные маркеры повреждения миокарда при реперфузии нарастали медленно, а восстановление сердечной функции произошло более высокими темпами и показало свою стабильность при возобновлении перфузии.

Заключение. SkQ1 в концентрации 12 нг/мл проявил выраженные антиоксидантные и кардиопротективные свойства в исследовании *ex vivo*.

Ключевые слова: *пластомитин; SkQ1; искусственное кровообращение; изолированное сердце; окислительный стресс*

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001 «Молекулярные, клеточные и биомеханические механизмы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний в разработке новых методов лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе персонализированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и ткане-инженерных имплантатов».

The Antioxidant Effect of Mitochondrially Targeted Antioxidant SkQ1 on the Isolated Rat Heart Model

Evgeniya A. Senokosova^{1*}, Sergey S. Krutitsky¹, Olga V. Gruzdeva¹, Larisa V. Antonova¹, Maxim V. Skulachev², Evgeniy V. Grigoriev¹

¹ Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Disease
6 Sosnovy bulvar, 650002 Kemerovo, Russia

² A. N. Belozersky Research Institute of Physical and Chemical Biology, M. V. Lomonosov Moscow State University,
1 Leninskie gory, Bldg 40, 119992 Moscow, Russia

Адрес для корреспонденции:

Евгения Андреевна Сенокосова
E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Correspondence to:

Evgeniya A. Senokosova
E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Summary

Mitochondrially targeted antioxidants based on Skulachev ions (SkQ1) are extremely attractive for neutralizing reactive oxygen species directly in the mitochondrial matrix.

The aim was to examine the antioxidant and cardioprotective status of the SkQ1 mitochondrially targeted antioxidant in an isolated rat heart model of ischemia and reperfusion after cold cardioplegia.

Material and methods. The effects of different concentrations of SkQ1 (1200 ng/ml, 120 ng/ml, 12 ng/ml) were explored on isolated hearts of Wistar rats ($n=50$) during 240-min cold cardioplegia. The levels of oxidative stress, changes in myocardial damage markers (classical and highly specific) and cardiac function (coronary flow velocity, heart rate, systolic pressure) were assessed.

Results. The use of SkQ1 at 12 ng/ml resulted in a significant neutralization of oxidative stress manifestations ($P<0.05$). The minimum concentration of NO metabolites (nitrates and nitrites) (36.2 [30.8; 39.8] $\mu\text{mol/ml}$) was maintained at pre-ischemic level throughout the 30-minute reperfusion period, while the malonic dialdehyde concentration (49.5 [41.1; 58.9] $\mu\text{mol/g}$) was lower compared with SkQ1 use at 120 ng/ml dose. Due to the «mitigation» of oxidative stress, intracellular enzymes and highly specific markers of myocardial damage rose more slowly during reperfusion, while cardiac function recovery occurred at a higher rate and showed stability upon restoration of perfusion.

Conclusion. SkQ1 at 12 ng/ml concentration showed strong antioxidant and cardioprotective properties in an *ex vivo* study.

Keywords: *plastomitin; SkQ1; bypass circulation; isolated heart; oxidative stress*

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

The full text version of the paper is available at www.reanimatology.com

Введение

Операции на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения остаются крайне востребованы. Коморбидность пациентов кардиохирургического профиля, искусственное кровообращение, продолжительное время ишемии/аноксии, которое испытывает миокард во время операции, реперфузия в совокупности обуславливают накопление продуктов метаболизма, развитие окислительного стресса и системного воспалительного ответа, которые могут привести к различным послеоперационным осложнениям, в том числе к полиорганной недостаточности [1, 2]. Поэтому активно развиваются исследования, направленные на поиск активных веществ и разработку методов, способных минимизировать послеоперационные осложнения в кардиохирургии. Окислительный стресс как одна из причин осложнений инициируется при нарушении нормального митохондриального дыхания и приводит к образованию активных форм кислорода (АФК), запускающих множество патофизиологических процессов [3]. Локальная нейтрализация АФК, находящихся в матриксе митохондрий, может стать наиболее эффективным способом смягчения окислительного стресса.

Большой интерес вызывают митохондриально-направленные антиоксиданты. Пластомитин является лекарственной формой одного из таких антиоксидантов — препаратом системного действия, основанного на ионах Скулачева (SkQ1). Собственную формулу антиоксиданта, содержащего пластохинон (SkQ1), разработала и активно изучает команда ученых под руководством академика РАН В. П. Скулачева [4, 5]. Антиоксидант SkQ1 в виде коммерческого продукта уже занял свои ниши в фарминдустрии и кос-

метологии: глазные капли «Визомитин» используются при синдроме сухого глаза и начальных стадиях катаракты, в основе патогенеза которых лежит окислительный стресс, а сыворотка для лица «Mitovitan» применяется для уменьшения выраженности признаков старения, при котором АФК играют немаловажную роль [6–8]. В изучении эффективности SkQ1 нуждаются также многие отрасли медицины, ветеринарии и сельского хозяйства [9, 10]. В частности, наша исследовательская группа заинтересована в разработке методов снижения послеоперационных осложнений в кардиохирургии, в основе развития которых в большинстве случаев лежит окислительный стресс, и способах сохранения жизнеспособности трансплантата сердца [11]. Выполненная работа посвящена исследованию эффектов SkQ1 на изолированном сердце, подвергнутом длительной аноксии и реперфузии *ex vivo*. В данном случае отсутствие системной регуляции со стороны организма позволило судить о «чистых» эффектах самого препарата.

Цель исследования — оценить антиоксидантный и кардиопротективный эффект митохондриально-направленного антиоксиданта — SkQ1 на модели ишемии и реперфузии изолированного сердца крысы в условиях холодовой кардиopleгии.

Материал и методы

Препарат Пластомитин (концентрация SkQ1 1,7 мг/мл) был предоставлен в рамках договора о научном сотрудничестве с ООО «Митотех» (Россия). Рабочие растворы SkQ1 готовили разведением препарата Пластомитин перфузионным раствором в соответствующей пропорции.

Эксперименты провели на изолированных сердцах здоровых самцов крыс линии Wistar ($m=300\pm 50$ г),

$n=50$. Животных содержали в стандартных условиях вивария без ограничения в пище и воде. Эксперименты и процедуры с лабораторными животными соответствовали правилам Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 150 от 16.11.2021).

Перфузия изолированных сердец по методу Langendorff. Подобную схему эксперимента мы уже использовали в исследованиях эффективности других препаратов [12]. Изначально крыс анестезировали внутрибрюшинным введением тиопентала натрия (25 мг/кг). Далее проводили торакалотию, сердца с необходимым участком аорты иссекали и сразу погружали в раствор Кребса–Хензеляйта ($t=4^{\circ}\text{C}$). Далее аорту канюлировали к системе перфузирования собственной сборки, включающей газовый и температурный контуры, с подачей стандартного раствора Кребса–Хензеляйта (ммоль/л): NaCl — 118,0, NaHCO_3 — 25,0, глюкоза — 11,0, KCl — 4,8, KH_2PO_4 — 1,2, MgSO_4 — 1,2; CaCl_2 — 1,2, обогащенного смесью газов — 95% O_2 и 5% CO_2 , $\text{pH}=7,3$ — $7,4$. Во время всех этапов эксперимента на изолированных сердцах поддерживали стабильную температуру перфузионного раствора в допустимом диапазоне от 37°C до 38°C , а также постоянное давление столба жидкости в 80 см вод. ст.

Протокол перфузирования.

Пилотный этап эксперимента. Стабилизация сердца — 20 минут; нормотермическая гипоперфузия (20 мл/ч) раствором Кребса–Хензеляйта с SkQ1 — 20 минут; реперфузия — 15 минут. Для сердец первой опытной группы провели гипоперфузию перфузионным раствором с SkQ1 в концентрации 12 нг/мл (группа «SkQ1 12», $n=5$), для второй опытной группы — 120 нг/мл («SkQ1 120», $n=5$), третьей — 1200 нг/мл («SkQ1 1200», $n=5$). В контрольной группе ($n=5$) исключили добавление SkQ1 в период гипоперфузии.

Исследуемые параметры. На 20-й минуте перфузии (доишемический уровень, ДУ) и 15-й минуте реперфузии регистрировали скорость коронарного протока (СКП, мл/мин). В оттекаемом от сердец перфузате устанавливали активность ферментов: креатинфосфокиназы миокардиальной фракции (КФК-МБ, Ед/л) и лактадегидрогеназы (ЛДГ, Ед/л) методом ферментативной кинетики на автоматическом биохимическом анализаторе «Konelab 30i» (Thermo Fisher, США).

Основной этап эксперимента. Стабилизация сокращения сердца — 20 минут; подключение второго потока перфузионного раствора с SkQ1 — 10 минут; гипоперфузия (20 мл/ч) охлажденным ($t=4^{\circ}\text{C}$) кардиоплегическим раствором (кустодиол, Dr. F.KOHLER CHEMIE, GmbH, Германия) — 10 минут; глобальная кардиоплегическая ишемия — 240 минут; реперфузия — 30 минут. Сердца первой опытной группы перфузировали двойным потоком раствором Кребса–Хензеляйта с SkQ1 в концентрации 120 нг/мл («SkQ1 120», $n=10$). Сердца второй опытной группы перфузировали аналогично первой группе с отли-

чим в концентрации SkQ1, которая составила 12 нг/мл («SkQ1 12», $n=10$). В контрольной группе ($n=10$) исключили добавление SkQ1 во второй поток перфузионного раствора.

Исследуемые параметры. На доишемическом уровне, 1-й, 10-й, 20-й и 30-й минутах реперфузионного периода регистрировали СКП, частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), систолическое давление (мм рт. ст.) при помощи аппарата прикроватного мониторинга, BSM-2301K (Nihon Kohden, Япония).

Активность таких ферментов, как КФК-МБ, ЛДГ, аспаратаминотрансферазы (АСТ, Ед/л) определяли аналогично пилотному этапу исследования. Концентрации сердечного белка, связывающего жирные кислоты (сБСЖК, нг/мл) и сердечного тропонина I (пг/л) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов Nycult biotech (США) и Cusabio (КНР), соответственно. Общую концентрацию нитритов и нитратов, митохондриальной супероксиддисмутазы (СОД-2), маркера перекисного повреждения митохондриальной ДНК (8-OHdG), изучали методом ИФА при помощи наборов Biomedica (Австрия) и R&D (США). Малоновый диальдегид (МДА) в гомогенате миокарда определяли коммерческим набором OxiSelect™ TBARS Assay Kit MDA Quantitation (Cell Biolabs, США).

Полученные данные статистически обработали с помощью программы «GraphPad Prism 7.0». Разницу регистрируемых показателей определяли с использованием непараметрического U -критерия Манна–Уитни для несвязанных пар, и критерием Вилкоксона — для зависимых групп. Различия между группами принимали статистически значимыми при $p<0,05$. Также применили поправки Данна и Тьюки при множественных сравнениях. Данные в разделе «Результаты и обсуждение» представили в виде Ме [25%; 75%], а также — полученных значений в исследуемом диапазоне или конкретной точке.

Результаты и обсуждение

Молекула SkQ1 (10-(6'-пластохинонилдецил) трифенилфосфоний бромид) имеет уникальное строение, позволяющее ей направленно и конформационно верно встраиваться в мембрану митохондрий (рис. 1).

Пилотный этап эксперимента. Известно, что SkQ1 проявляет высокую антиоксидантную активность в наномолярных концентрациях [15]. Известно также, что другой митохондриально-направленный антиоксидант MitoQ оказывал выраженный антиоксидантный эффект в концентрации 50 нмоль/л на модели ишемии почки свиньи, что привело к повышению общего кровотока и диуреза [16]. Однако, учитывая, что в собственном исследовании предполагали крайне продолжительный этап аноксии, при котором неизбежны серьезные нарушения клеточного дыхания и проницаемости мембраны митохондрий [17], провели пилотный эксперимент для

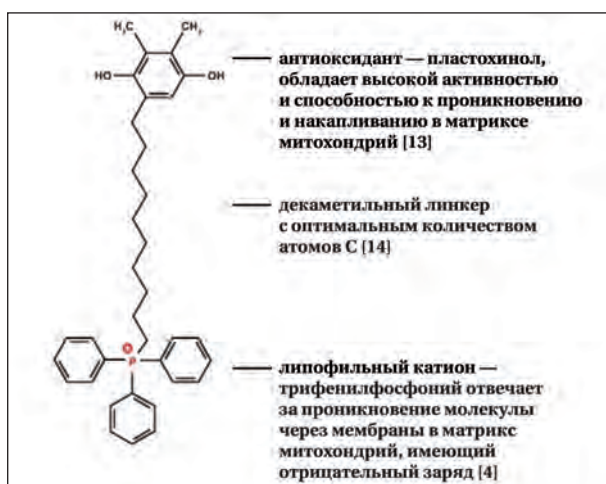


Рис. 1. Молекула SkQ1.

выбора адекватной концентрации SkQ1. Изолированные сердца крыс перфузировали тремя разными концентрациями антиоксиданта: 12 нг/мл, 120 нг/мл и 1200 нг/мл. На начальном этапе определили, какое количество SkQ1 проникает и депонируется в миокарде.

Как и предполагалось, количество ионов на 1 г ткани возросло соответственно уве-

личению концентрации ионов в перфузионном растворе. Так максимальную концентрацию ионов установили в группе «SkQ1 1200» — 6234,0 [4569,0; 8867,0] нг/г, в «SkQ1 120» — 1059,0 [825,5; 1317,0] нг/г, в «SkQ1 12» — 268,1 [100,2; 293,0] нг/г (рис. 2, а).

Скорость коронарного протока восстановилась до исходного уровня во всех опытных группах после периода гипоперфузии и реперфузии. Следует отметить, что в «SkQ1 120» медиана СКП (15,1 [14,7; 16,0] мл/мин) была статистически значимо выше относительно значений группы контроля (10,0 [9,0; 14,0] мл/мин, $p=0,003$) и на 15,8 % выше исходных значений 13,0 [12,1; 15,1] мл/мин. Однако повышение концентрации SkQ1 в перфузионном растворе до 1200 нг привело к снижению СКП на 3% относительно исходного уровня (рис. 2, б). Уровень активности КФК-МБ статистически не отличался при межгрупповом сравнении, но увеличение концентрации SkQ1 до 1200 нг/мл способствовало повышению активности КФК-МБ на 38,5% относительно исходных значений (рис. 2, с). Уровень активности ЛДГ в «SkQ1 1200» достиг 5,0 [0,0; 8,0] Ед/л, что было значимо

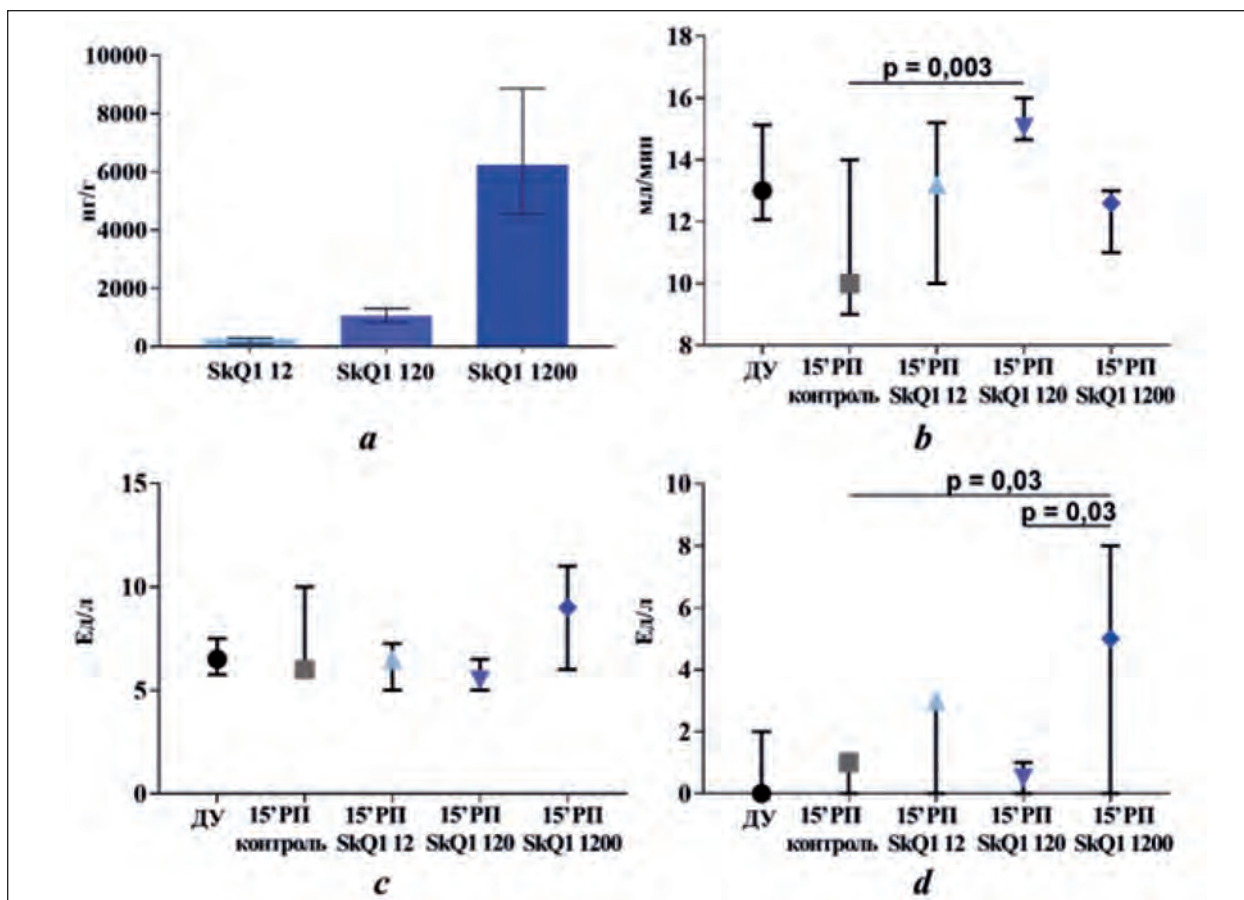


Рис. 2. Результаты пилотного исследования SkQ1 на модели изолированного сердца крысы.

а — концентрация SkQ1 в ткани миокарда; б — скорость коронарного протока; с — креатинфосфокиназа миокардиальная фракция; д — лактатдегидрогеназа.

Примечание. Для рис. 2, 4–6: ДУ — доишемический уровень; РП — реперфузия.

выше уровня активности в группе контроля (1,0 [0,0; 1,0] Ед/л) и «SkQ1 120» (0,5 [0,0; 1,0] Ед/л, $p=0,003$, рис. 2, *d*). Рост активности ЛДГ, как и КФК-МБ на 15-й минуте реперфузии в группе «SkQ1 1200», может указывать на повышение интенсивности анаэробного дыхания, образования АФК и повреждения сарколеммы кардиомиоцитов при наличии в перфузионном растворе SkQ1 в концентрации 1200 нг/мл, что можно рассматривать как токсические эффекты препарата в данной концентрации.

Проведение пилотного этапа исследования позволило выделить потенциально эффективные и безопасные концентрации SkQ1 на модели изолированного сердца крысы без окклюзии аорты. Нормотермическая гипоперфузия, предполагающая содержание SkQ1, равное 12 нг/мл или 120 нг/мл, не повлияла на изначальные параметры изолированных сердец, в отличие от концентрации 1200 нг/мл, которая спровоцировала повышение выхода внутриклеточных ферментов на фоне снижения СКП. Поэтому в основной этап исследования включили концентрации SkQ1 12 нг/мл и 120 нг/мл.

Основной этап эксперимента. Исследование нового митохондриально-направленного антиоксиданта на лабораторном этапе предполагало усложнение и приведение к клиническим условиям эксперимента на изолированном сердце, включившего 240-минутную кардиоплегическую тотальную ишемию (аноксию) с целевой температурой миокарда $+11^{\circ}\text{C}$. Спектр изучаемых параметров расширили и объединили в 3 части: окислительный стресс, маркеры повреждения миокарда и сердечные показатели.

Окислительный стресс. Антиоксидантная поддержка в концентрации 12 нг/мл привела к статистически значимому снижению стабильных NO-метаболитов по сравнению с контролем и группой «SkQ1 120»: общая концентрация нитратов и нитритов в исследуемом гомогенате ткани миокарда равнялась 36,2 [30,8; 39,8] мкмоль/мл ($p=0,02$), тогда как в группе «SkQ1 120» — 52,3 [46,6; 55,0] мкмоль/мл ($p=0,0006$, рис. 3, *a*). Известно, что NO является прооксидантом и вместе с пероксинитритом непосредственно повреждает ДНК [18, 19]. Однако в наших экспериментах не установили наличие продукта окислительного стресса митохондриальной ДНК — 8-ОН-дезоксигуанозина в гомогенате миокарда ни в одной группе исследования. Концентрация МДА, отражающая перекисное окисление липидов, была наименьшей в группе «SkQ1 12 нг» — 49,5 [41,1; 58,9] мкмоль/г, что статистически значимо ниже в сравнении с контролем ($p=0,02$, рис. 3, *b*) [20]. В норме в клетке постоянно образуются АФК в низких концентрациях. Для поддержания их безопасного уровня

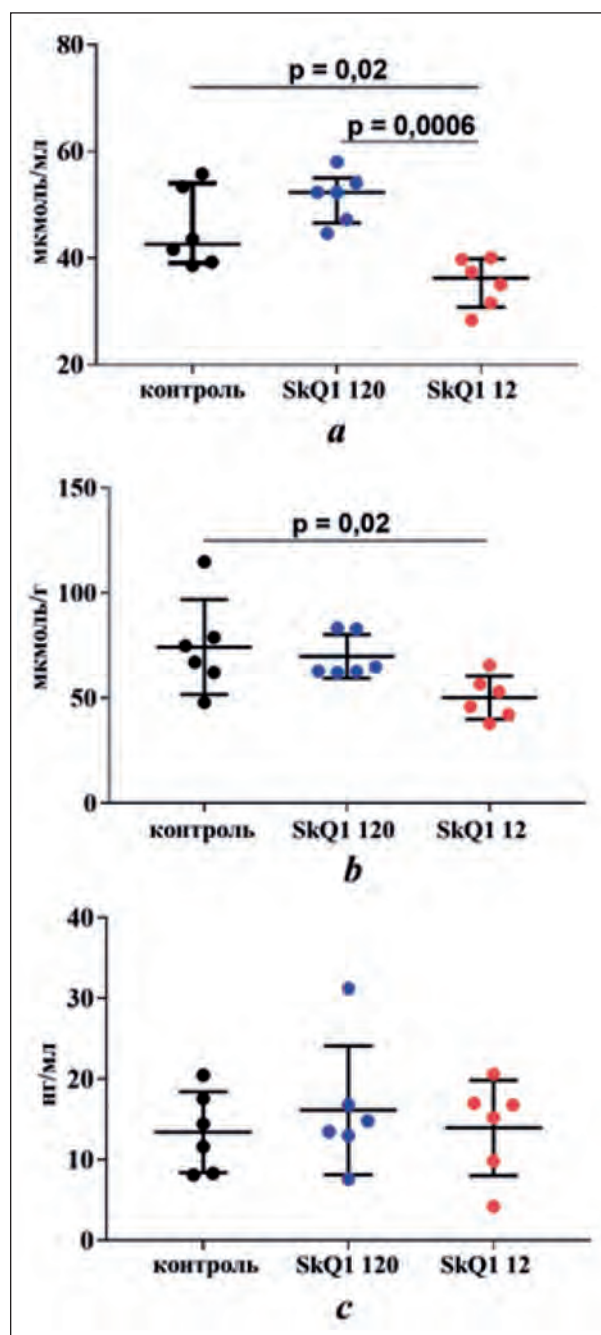


Рис. 3. Продукты окислительного стресса.

a — общая концентрация нитритов и нитратов; *b* — малоновый диальдегид; *c* — митохондриальная супероксиддисмутаза.

существует антиоксидантная система, включающая фермент СОД-2 [21, 22]. Однако по митохондриальной СОД значимых отличий между группами сравнения не отметили: в среднем, концентрация фермента составляла 14,4 нг/мл (рис. 3, *c*). Поэтому можно предположить, что снижение окислительного стресса в группе «SkQ1 12» связано именно с антиоксидантной активностью SkQ1.

Маркеры повреждения миокарда. При единовременном измерении динамики выхода КФК-МБ и ЛДГ до и после ишемии и реперфузии

миокарда примечательно то, что изменение активности обоих ферментов не превышало 1–2 Ед/л (рис. 4, *a, b*). Однако добавление SkQ1 к перфузионному раствору способствовало статистически значимому увеличению выхода АСТ в миокардиальный отток относительно исходных значений и группы контроля ($0,01 \leq p \leq 0,047$, рис. 4, *c*). Наибольший прирост выхода АСТ отмечен при концентрации ионов 120 нг/мл: к 30-й минуте активность фермента превосходила доишемическую в 12 раз. Данную динамику можно расценивать как признак кардиотоксичности SkQ1 в концентрации 120 нг/мл.

Уменьшение концентрации SkQ1 до 12 нг/мл привело к удержанию высвобождения АСТ на 1-й минуте (3,0 [1,0; 16,0] Ед/л). К концу реперфузии медиана активности данного фермента в 5,5 раз превысила исходную, но эти изменения не имели статистической значимости и не отличались от значений данного показателя на 30-й минуте реперфузии в контрольной группе (рис. 4, *c*).

Наиболее активное высвобождение высокоспецифичного маркера повреждения миокарда — сБСЖК, согласно определению его концентрации в перфузате, наблюдали в группе «SkQ1 120»: в среднем — 14,6 нг/мл весь период реперфузии. В группе «SkQ1 12» отметили активное снижение концентрации сБСЖК в перфузате, которая достигла 0,8 [0,6; 6,0] нг/мл к 30-й минуте реперфузии что было статистически значимо ниже концентрации маркера на 10-й минуте реперфузии ($p=0,03$, рис. 5, *a*).

Добавление к перфузионному раствору антиоксиданта опосредованно защищало миофибриллы миокарда в течение всего периода реперфузии: при его концентрациях 12 нг/мл и 120 нг/мл активность повреждения сократительных структур сердца снизилась относительно группы контроля, в которой концентрация сердечного тропонина I достигла 47,4 [29,3; 54,15] нг/мл к 30-й минуте после восстановления оксигенированного потока перфузионного раствора к ишемизированному миокарду (рис. 5, *b*).

Сердечные показатели. Введение в состав перфузионного раствора SkQ1 в концентрации 12 нг/мл до периода холодной кардиopleгии способствовало положительным эффектам при реперфузии. ЧСС стабилизировалась и достигла исходного уровня (211 [200; 225] уд/мин) только в условиях антиоксидантной поддержки, тогда как в группе контроля наблюдали статистически значимое «угасание» ЧСС к концу эксперимента до значений, составивших только 52% от исходных (рис. 6, *a*). В группе «SkQ1 12» отметили восстановление стабильного систолического давления — 98 [90; 102] мм рт. ст. уже с 10-й мин реперфузии (рис. 6, *b*).

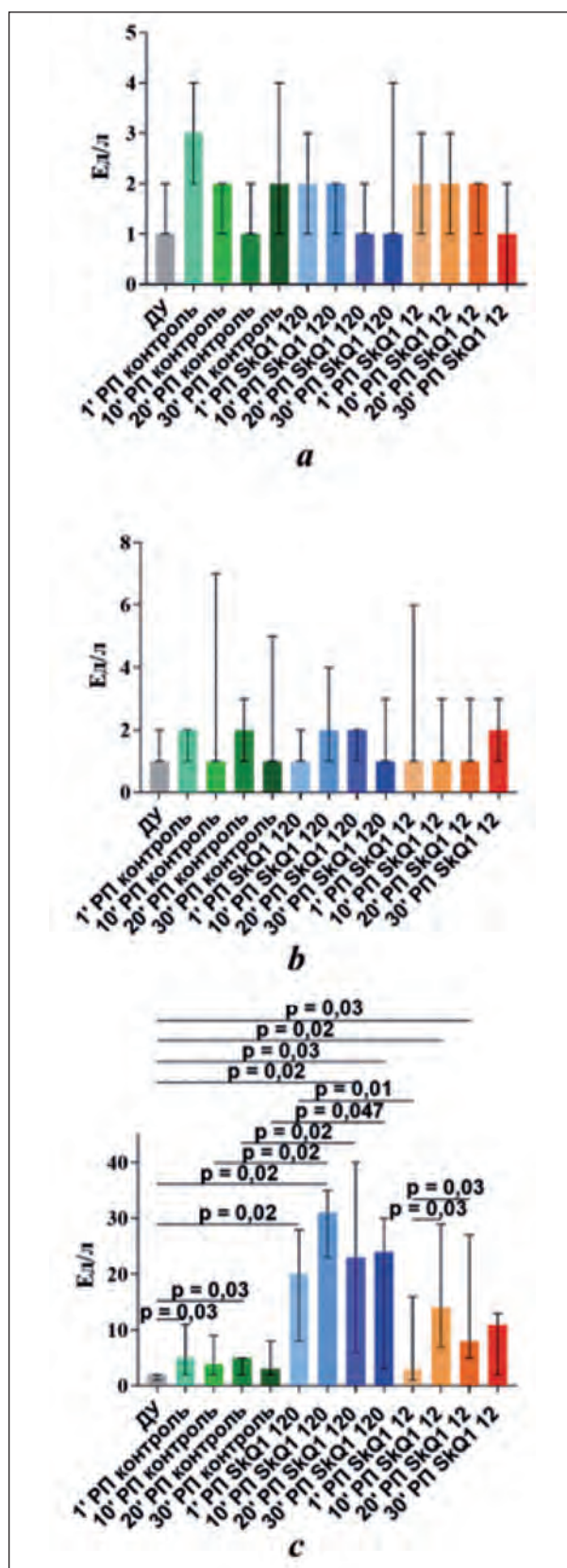


Рис. 4. Динамика содержания внутриклеточных ферментов в перфузате, оттекающем от изолированного сердца крысы.

a — креатинфосфокиназа миокардиальная фракция; *b* — лактатдегидрогеназа; *c* — аспаратаминотрансфераза.

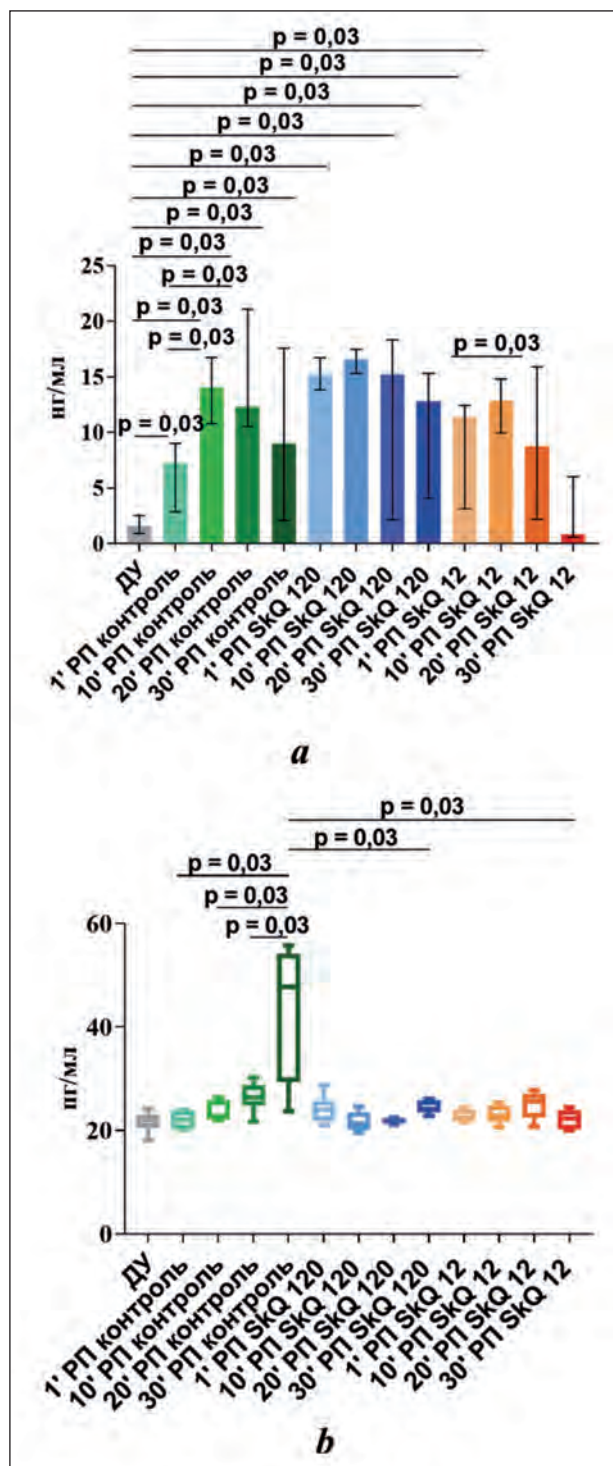


Рис. 5. Высокоспецифичные маркеры повреждения миокарда. *a* — сердечный белок, связывающий жирные кислоты; *b* — сердечный тропонин I.

СКП восстановилась к 10-й минуте реперфузии только в группе «SkQ1 12» и оставалась равной 11,0 [8,4; 12,0] мл/мин к концу эксперимента. В группе «SkQ1 120» наблюдали снижение СКП на 14,4 % относительно исходного уровня — 10,4 [10,0; 11,8] мл/мин (рис. 6, *c*). Использование более низкой концентрации ан-

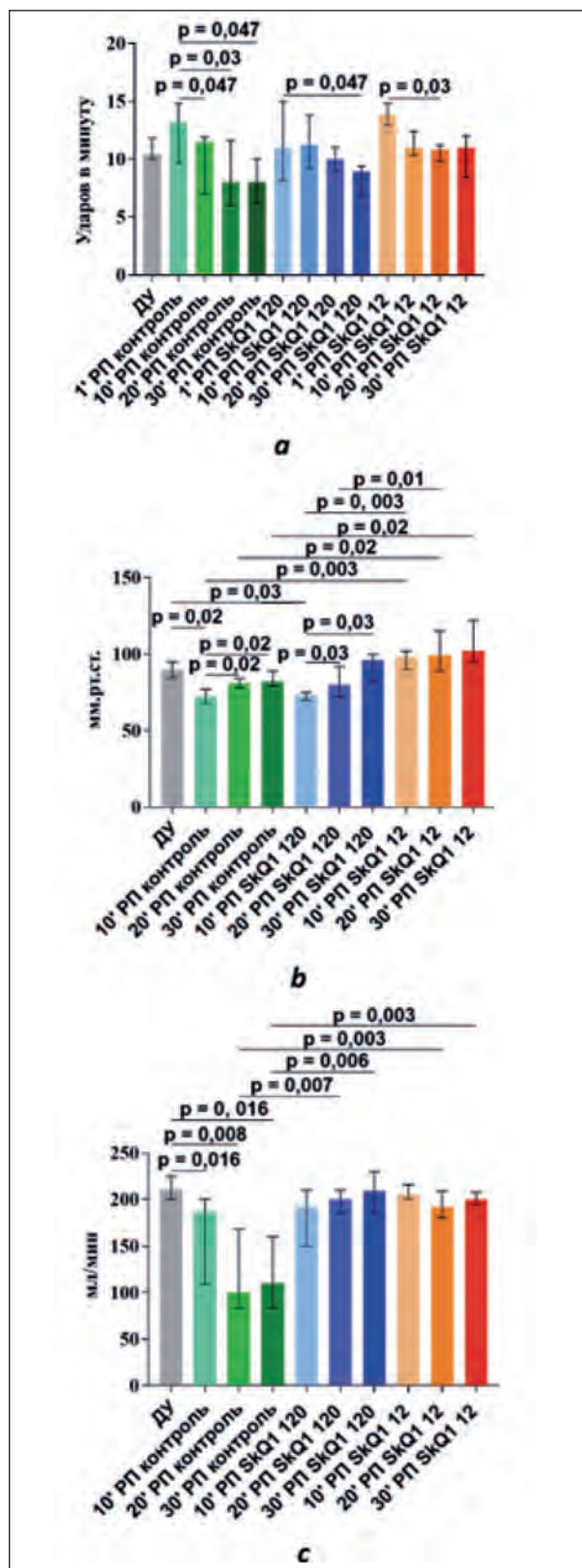


Рис. 6. Физиологические показатели деятельности изолированного сердца крысы.

a — частота сердечных сокращений; *b* — систолическое давление; *c* — скорость коронарного протока.

тиоксиданта оказалось эффективнее в отношении восстановления сердечных показателей. В исследованиях под руководством профессора

В. И. Капелько также отмечены положительные эффекты SkQ1 в отношении поддержки сократительной функции миокарда в экспериментах *in vivo* [23]. Нарушения ритма на 1–2-й минуте в каждой группе исследования отметили в 100% наблюдений. В группе «SkQ1 120» отметили 40 % частоту появления краткосрочных периодов аритмий в период с 15-й по 30-ю минуту реперфузии, тогда как в «SkQ1 12» — только в 1 случае. Контрольная группа характеризовалась максимальным количеством аритмий — 50%, в 1 случае нарушения ритма сердца сохранялись с 16-й по 30-ю минуту реперфузии. Полученные нами результаты согласуются с данными В. И. Капелько и В. Л. Лакомкина, которым удалось значительно снизить выраженность аритмий изолированного сердца при минимальных дозировках SkQ1 [24]. Bakeeva L. E. с коллегами в исследовании на крысах установили также, что при приеме с пищей чрезвычайно низкой дозировки SkQ1 (0,02 нмоль/кг в сутки в течение 3 недель) устранялась сердечная аритмия, а повышение дозировки до

125–250 нмоль/кг в сутки в течение 3 недель уменьшало площадь инфаркта миокарда [25].

Заключение

Модель холодовой кардиологической ишемии/аноксии изолированного миокарда позволяет имитировать состояние сердца при операциях в условиях искусственного кровообращения. Кардиоплегический раствор в сочетании с низкой температурой сердца около +11°C снижает скорость метаболизма сердца в период аноксии, но не сводит к безопасному минимуму накопление продуктов окислительного стресса. Антиоксидантная поддержка SkQ1 в концентрации 12 нг/мл, оказанная до периода аноксии, максимально эффективно нейтрализовала АФК, предупреждала увеличение уровня молекулярных маркеров повреждения миокарда и восстанавливала его сократимость в реперфузионном периоде. Минимальные дозы митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 оказывают кардиопротективное действие.

Литература

1. Suleiman M.S., Zacharowski K., Angelini G.D. Inflammatory response and cardioprotection during open-heart surgery: the importance of anaesthetics. *Br J Pharmacol.* 2008; 153 (1): 21–33. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707526. PMID: 17952108.
2. Bartels K., Karhausen J., Clamby E.T., Grenz A., Eltzhösch H.K. Perioperative organ injury. *Anesthesiology.* 2013; 119 (6): 1474–1489. DOI: 10.1097/ALN.000000000000022. PMID: 24126264.
3. Beteridge D.J. What is oxidative stress? *Metabolism.* 2000; 49 (2 Suppl 1): 3–8. DOI: 10.1016/s0026-0495 (00)80077-3. PMID: 10693912.
4. Skulachev M.V., Antonenko Y.N., Anisimov V.N., Chernyak B.V., Cherepanov D.A., Chistyakov V.A., Egorov M.V., Kolosova N.G., Korshunova G.A., Lyamzaev K.G., Plotnikov E.Y., Roginsky V.A., Savchenko A.Y., Severina I.I., Severin F.F., Shkurat T.P., Tashlitsky V.N., Shidlovsky K.M., Vyssokikh M.Y., Zamyatin A.A. Jr., Zorov D.B., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives. Effect on senescence and acute age-related pathologies. *Curr Drug Targets.* 2011; 12 (6): 800–826. DOI: 10.2174/138945011795528859. PMID: 21269268.
5. Anisimov V.N., Egorov M.V., Krasilshchikova M.S., Lyamzaev K.G., Mansikh V.N., Moshkin M.P., Novikov E.A., Popovich I.G., Rogovin K.A., Shabalina I.G., Shekarova O.N., Skulachev M.V., Titova T.V., Vygodin V.A., Vyssokikh M.Yu., Yurova M.N., Zabezhinsky M.A., Skulachev V.P. Effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents. *Aging (Albany NY).* 2011; 3 (11): 1110–1119. DOI: 10.18632/aging.100404. PMID: 22166671.
6. Яни Е.В., Катаргина Л.А., Чеснокова Н.Б., Безнос О.В., Савченко А.Ю., Выгодин В.А., Гудкова Е.Ю., Замыатин А.А., Скулачев М.В. Первый опыт использования препарата Визомитин® в терапии «сухого глаза». *Практическая медицина.* 2012; 4 (59): 134–137. УДК: 615: 617.764.1-008.811.4 [Yani E.V., Katargina L.A., Chesnokova N.B., Beznos O.V., Savchenko A.Yu., Vygodin V.A., Gudkova E.Yu., Zamyatin A.A., Skulachev M.V. The first experience of using the drug Visomitin® in the therapy of «dry eyes». *Practical medicine/Prakticheskaya medicina.* 2012; 4 (59): 134–137. (in Russ.). UDC: 615: 617.764.1-008.811.4].
7. Егоров Е.А. Особенности терапии синдрома «сухого глаза». *РМЖ. Клиническая офтальмология.* 2018; 3: 146–149. DOI: 10.21689/2311-7729-2018-18-3-146-149. [Egorov E.A. Features of dry eye syndrome treatment. *RMJ. Clinical ophthalmology/RMJ. Klinicheskaya oftalmologiya.* 2018; 3: 146–149. (in Russ.). DOI: 10.21689/2311-7729-2018-18-3-146-149].
8. Gu Y., Han J., Jiang C., Zhang Y. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. *Ageing Res Rev.* 2020; 59: 101036. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101036. PMID: 32105850.
9. Усков А.И., Ускова Л.Б., Кравченко Д.В., Галушка П.А., Закабунина Е.Н. Регуляция процессов физиологического старения при длительном репродуктивном картофеле. *Земледелие.* 2018; 5: 40–44. DOI: 10.24411/0044-3913-2018-10511. [Uskov A.I., Uskova L.B., Kravchenko D.V., Galushka P.A., Zakabumina E.N. Regulation of physiological aging processes during long-term potato reproduction. *Agriculture/Zemledelie.* 2018; 5: 40–44. (in Russ.). DOI: 10.24411/0044-3913-2018-10511].
10. Ловат М.Л., Аврущенко М.И., Аверина О.А., Павшинцев В.В., Острова И.В., Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Егоров М.В. Действие антиоксиданта SkQ1 на структурнофункциональное состояние мозга в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология.* 2016; 12 (2): 6–19. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-6-19 [Lovat M.L., Avrushchenko M.Sh., Averina O.A., Pavshintsev V.V., Ostrova I.V., Zarzhetsky Y.V., Moroz V.V., Egorov M.V. Effect of SkQ1 antioxidant on structural and functional conditions of the brain in postresuscitation period. *General Reanimatology/ Obshchaya reanimatologiya.* 2016; 12 (2): 6–19. (in Russ.). DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-6-19].
11. Sponga S., Bonetti A., Ferrara V., Beltrami A.P., Isola M., Vendramin I., Finato N., Ortolani F., Livi U. Preservation by cold storage vs ex vivo normothermic perfusion of marginal donor hearts: clinical, histopathologic, and ultrastructural features. *J Heart Lung Transplant.* 2020; 39 (12): 1408–1416. DOI: 10.1016/j.healun.2020.08.021. PMID: 33041182.
12. Сенокосова Е.А., Крутицкий С.С., Великанова Е.А., Цепоккина А.В., Кузьмина А.А., Третьяк В.М., Денисова С.В., Груздева О.В., Антонова Л.В., Григорьев Е.В. Применение левосимендана и фосфокреатина в целях коррекции ишемических и реперфузионных повреждений миокарда: экспериментальное исследование *ex vivo*. *Анестезиология и реаниматология.* 2019. 2: 67–74. DOI: 10.17116/anaesthesiology201902167. [Senokosova E.A., Krutitsky S.S., Velikanova E.A., Tsepokina A.V., Kuzmina A.A., Tretyak V.M., Denisova S.V., Gruzdeva O.V., Antonova L.V., Grigoriev E.V. Levosimendan and phosphocreatin administration for the correction of myocardial ischemic — reperfusion injury: experimental research *ex vivo*. *Anesthesiology and intensive care/Anesteziology i reanimatologiya.* 2019. 2: 67–74. (in Russ.). DOI: 10.17116/anaesthesiology201902167].
13. Antonenko Y.N., Roginsky V.A., Pashkovskaya A.A., Rokitskaya T.I., Kotova E.A., Zasp A.A., Chernyak B.V., Skulachev V.P. Protective effects of mitochondria-targeted antioxidant SkQ in aqueous and lipid membrane environments. *J Membr Biol.* 2008; 222 (3): 141–149. DOI: 10.1007/s00232-008-9108-6. PMID: 18493812.
14. Anisimov V.N., Egorov M.V., Krasilshchikova M.S., Lyamzaev K.G., Mansikh V.N., Moshkin M.P., Novikov E.A., Popovich I.G., Rogovin K.A., Shabalina I.G., Shekarova O.N., Skulachev M.V., Titova T.V., Vygodin V.A., Vyssokikh M.Yu., Yurova M.N., Zabezhinsky M.A., Skulachev V.P. Effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents. *Aging (Albany NY).* 2011; 3 (11): 1110–1119. DOI: 10.18632/aging.100404. PMID: 22166671.
15. Antonenko Y.N., Avetisyan A.V., Bakeeva L.E., Chernyak B.V., Chertkov V.A., Domnina L.V., Ivanova O.Yu., Izyumov D.S., Khailova L.S., Klishin S.S., Korshunova G.A., Lyamzaev K.G., Muntyan M.S., Nepryakhina O.K., Pashkovskaya A.A., Pletjushkina O.Yu., Pustovidko A.V., Roginsky V.A., Rokitskaya T.I., Ruuge, E.K., Saprunova V.B., Severina I.I., Simonyan R.A., Skulachev I.V., Skulachev M.V., Sumbatyan N.V., Sviryaeva I.V., Tashlitsky V.N., Vassiliev J.M., Vyssokikh M.Yu., Yaguzhinsky L.S., Zamyatin A.A. Jr., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. I. Cationic plastoquinone derivatives: synthesis and *in vitro* studies. *Biochemistry (Mosc.).* 2008; 73 (12): 1273–1287. DOI: 10.1134/s0006297908120018. PMID: 19120014.

16. Hamed M., Logan A., Gruszczyn A.V., Beach T.E., James A.M., Dare A.J., Barlow A., Martin J., Georgakopoulos N., Gane A.M., Crick K., Fouto D., Fear C., Thiru S., Dolezalova N., Ferdinand J.R., Clatworthy M.R., Hosgood S.A., Nicholson M.L., Murphy M.P., Saeb-Parsy K. Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorates ischaemia-reperfusion injury in kidney transplantation models. *Br J Surg.* 2021; 108 (9): 1072–1081. DOI: 10.1093/bjs/znab108. PMID: 33963377.
17. Сергеева Е.А., Крутицкий С.С., Великанова Е.А., Цепкина А.В., Кузьмина А.А., Груздева О.В., Антонова Л.В., Григорьев Е.В. Диагностическая значимость оптической биопсии миокарда для оценки выраженности ишемического и реперфузионного повреждения. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2016; 5 (3): 10–15. DOI: 10.17802/2306-1278-2016-3-10-15. [Sergeeva E.A., Krutitskiy S.S., Velikanova E.A., Tsepokina A.V., Kuzmina A.A., Gruzdeva O.V., Antonova L.V., Grigoriev E.V. Diagnostic significance of optical myocardial biopsy to assess the severity of ischemic and reperfusion injury. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases/ Kompleksnye Problemy Serdechno-Sosudistykh Zabolevaniy.* 2016; (3): 10–15. (In Russ.). DOI: 10.17802/2306-1278-2016-3-10-15].
18. Tomomi G., Masataka M. Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26 (7): 1439–1446. DOI: 10.1161/01.ATV.0000223900.67024.15. PMID: 16645155.
19. Беленичев И.Ф. Рациональная нейропротекция: в монографии: Беленичев И.Ф., Черный В.И., Колесник Ю.М., Павлов С.В., Андронова И.А., Абрамов А.В., Островая Т.В., Бухтиярова Н.В., Кучеренко Л.И. Донецк: Издатель Заславский А.Ю.; 2009: 262. ISBN 978-611-7001-00-0. [Belenichev I.F. Rational neuroprotection: in the monograph: Belenichev I.F., Cherniy V.I., Kolesnik Yu.M., Pavlov S.V., Andronova I.A., Abramov A.V., Ostrovaya T.V., Bukhtiyarova N.V., Kucherenko L.I. Donetsk: Publisher Zaslavsky A.Yu.; 2009: 262. ISBN 978-611-7001-00-0].
20. Weismann D., Binder C.J. The innate immune response to products of phospholipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1818 (10): 2465–2475. DOI: 10.1016/j.bbame.2012.01.018. PMID: 22305963.
21. Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell.* 2005; 120 (4): 483–495. DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.001. PMID: 15734681.
22. Mizobuti D.S., Fogaça A.R., Moraes F.D.S.R., Moraes L.H.R., Mancio R.D., Hermes T.A., Macedo A.B., Valduga A.H., de Lourenco C.C., Pereira E.C.L., Minatel E. Coenzyme Q10 supplementation acts as antioxidant on dystrophic muscle cells. *Cell Stress Chaperones.* 2019; 24 (6): 1175–1185. DOI: 10.1007/s12192-019-01039-2. PMID: 31620981.
23. Абрамов А.А., Лакомкин В.Л., Просвирнин А.В., Лукошкова Е.В., Капелько В.И. Улучшение функции сердца под влиянием митохондриального антиоксиданта пластомитина при доксорубициновой кардиомиопатии. *Кардиология.* 2019; 59 (6): 35–41. DOI: 10.18087/cardio.2019.6.2649. [Abramov A.A., Lakomkin V.L., Prosvirnin A.V., Lukoshkova E.V., Kapelko V.I. Mitochondrial antioxidant plastomitin improves cardiac function in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Kardiologiya.* 2019; 59 (6): 35–41. (in Russ.). DOI: 10.18087/cardio.2019.6.2649. PMID: 31242839].
24. Лакомкин В.Л., Капелько В.И. Профилактический эффект нового антиоксиданта SkQ1 на аритмии при окислительном стрессе. *CardioСоматика.* 2011; 2 (2): 105–110. eLIBRARY ID: 16542330. [Lakomkin V.L., Kapelko V.I. Prophylactic effect of new antioxidant SkQ1 on arrhythmias at oxidative stress. *Cardiosomatics/ CardioSomatika.* 2011; 2 (2): 105–110. (in Russ.). eLIBRARY ID: 16542330].
25. Bakeeva L.E., Barskov I.V., Egorov M.V., Isaev N.K., Kapelko V.I., Kazachenko A.V., Kirpatovsky V.I., Kozlovsky S.V., Lakomkin V.L., Levina S.B., Pisarenko O.I., Plotnikov E.Y., Saprunova V.B., Serebryakova L.I., Skulachev M.V., Stelmashook E.V., Studneva I.M., Tskitishvili O.V., Vasil'yeva A.K., Victorov I.V., Zorov D.B., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 2. Treatment of some ROS- and age-related diseases (heart arrhythmia, heart infarctions, kidney ischemia, and stroke). *Biochemistry (Mosc).* 2008; 73 (12): 1288–299. DOI: 10.1134/s000629790812002x. PMID: 19120015.

Поступила 08.04.2022