

*Махмудова Ж.А., Алдашев А.А., Зурдинов А.З.*

**ТЕЧЕНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВОГО НЕКРОЗА МИОКАРДА НА ФОНЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ НОРМОДИПИНА И КОЭНЗИМА Q<sub>10</sub> ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ ПРЕБЫВАНИИ ЖИВОТНЫХ В ГОРАХ**

*Zh.A. Makhmudova, A.A. Aldashev, A.Z. Zurdinov*

**CATHECHOLAMINE MYOCARDIAL NECROSIS AT COMBINED USE OF NORMODIPINE AND COENZYME Q<sub>10</sub> IN SHORT-TERM HIGH ALTITUDE CONDITIONS**

УДК:541:125/78

*Установлено, что сочетанное применение нормодипина и коэнзима Q<sub>w</sub> способствует благоприятному течению ишемических и некротических процессов, препятствует прогрессированию этих процессов и развитию осложненного течения инфаркта миокарда в условиях высокогорья.*

**Ключевые слова:** высокогорье, некроз, адреналин, маркерные ферменты, нормодипин, коэнзим Q<sub>w</sub>

*It was established that the concurrent use of normodipine and coenzyme Q<sub>w</sub> promotes to beneficial events of ischemic and necrotic processes, prevents to their exacerbation and myocardial infarction development in high altitude.*

**Key words:** high altitude, necrosis, adrenaline, marker enzymes, normodipine, coenzyme Q<sub>w</sub>

В настоящее время одной из актуальных проблем современной биологии и медицины продолжает оставаться проблема приспособления живых организмов к условиям высокогорья. В связи с промышленным освоением горных регионов страны непрерывно происходит миграция населения на различные высоты. В горах на организм действует комплекс факторов, доминирующим среди которых является гипоксия [1]. Воздействие на организм гипоксического фактора всегда сопряжено с дополнительными энергетическими затратами клетки. Расстройство энергоснабжения миокарда в условиях гипоксии является ведущим фактором его повреждения, так как гипоксия приводит к нарушению синтеза АТФ в митохондриях. От адаптации источников энергопродукции в тканях зависит эффективность работы сердца в горах. С другой стороны известно, что высотная гипоксия увеличивает концентрации катехоламинов в крови, которые, действуя опосредованно через аденилатциклазную систему, вызывают вход в миокардиальные клетки Ca<sup>2+</sup>, избыток которого приводит к разобщению окисления с фосфорилированием в митохондриях и снижению синтеза АТФ и креатин-фосфата. Одновременно вызванный адренергической стимуляцией избыток Ca<sup>2+</sup> приводит к контрактурным сокращениям миофибрилл и гибели отдельных клеток. В итоге возникают мелкоочаговые некрозы миокарда, являющиеся следствием чрезмерного адренергического воздействия на сердце [2]. Коррекция интракардиальных механизмов регуляции сердца в настоящее время является одним из ведущих и перспективных методов лечения. Эта коррекция осуще-

вляется комплексом препаратов, объединенных общим названием «антагонисты кальция» [3,4]. Блокаторы кальциевых каналов являются одним из основных классов препаратов, используемых в современной кардиологии. Особый интерес представляет амлодипин - блокатор кальциевых каналов III поколения из группы дигидропиридинов, которые обладают пролонгированным действием, высокой вазоселективностью [5].

Поскольку энергетический обмен миокарда чутко реагирует на воздействие гипоксии, то важно найти средства, позволяющие коррегировать системы метаболической адаптации к гипоксии [6,7]. Одним из средств, играющей ключевую роль в биоэнергетических процессах митохондрии, является коэнзим Q<sub>10</sub> (убихинон). КоQ<sub>10</sub> липидорастворимое соединение из класса бензохинонов. КоQ<sub>10</sub> является обязательным компонентом дыхательной цепи как переносчик электронов в митохондриях, принимая участие в процессах окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ. Кроме этого он выполняет в клетках еще одну важную функцию - его восстановленная форма является единственным липофильным антиоксидантом, который синтезируется в клетках животных и человека, а также постоянно регенерируется из окисленной формы с помощью ферментных систем организма [8,9,10,11,12].

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось изучение течения катехоламинового некроза миокарда на фоне сочетанного применения нормодипина и коэнзима Q<sub>10</sub> у животных в условиях кратковременного пребывания на высокогорье.

**Материалы и методы исследования.**

Эксперименты проводились на 45 кроликах массой 2,5 - 3,0 кг на 3-й сутки пребывания в условиях высокогорья (п. Туя-Ашу, 3200 м над у. м.). Катехоламиновый некроз провоцировался однократным внутривенным введением адреналина 0,015 мг/кг массы тела в условиях высокогорья. Нормодипин и КоQ<sub>10</sub> вводились одновременно, перорально соответственно в дозе 1 мг/кг и 2 мг/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 14 дней после введения адреналина через 2 часа. Животные были разделены на 5 групп: 1- интактная группа в условиях низкогорья, 2-я группа - интактные животные в условиях

высокогорья, 3-я группа - кролики с моделированным некрозом миокарда в горах, 4-я группа - животные с моделированным катехоламиновым некрозом сердечной мышцы, получавшие перорально в сочетании нормодипин и коэнзим Q<sub>10</sub> в условиях высокогорья, 5-я группа - животные с моделированным катехоламиновым некрозом миокарда, получавшие плацебо в условиях высокогорья.

Регистрация электрокардиограммы осуществлялась на электрокардиографе -ЭКГ во II отведении. Скорость протяжки ленты была 50 мм/сек. ЭКГ регистрировалась через 6 часов после моделирования некроза миокарда в условиях низкогорья и на 3-сутки пребывания в горах здоровых животных, а также через 6 часов после моделирования повреждения сердечной мышцы на 3-сутки пребывания в условиях высокогорья.

У всех перечисленных групп животных до и после эксперимента определялся ряд кардиоспецифических маркеров: количественное определение креатинфосфокиназы - МВ фракции в сыворотке крови «Диагностическими наборами для определения КФК-МВ» на автоанализаторе «SYNCHRON-CX 4» («БЕСКМАН COULTER») через 6 часов после введения адреналина. Количественное определение концентрации аспаратаминотрансферазы (АсАТ) в сыворотке крови наборами реагентов «Аминот-рансфераза AST 360» (PLIVA-Lachema Diagnostika) на фотозлектроколориметре. Количественное определение концентрации тропонина I наборами реагентов «Тропонин I -ИФА» («ХЕМА» г. Москвы) в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

После перорального введения нормодипина в сочетании с КоQ<sub>10</sub> животным в сыворотке крови нами определялись только аспаратаминотрансфераза и тропонин I. Поскольку КФК-МВ относится к «ранним» маркерам, и при повреждении миокарда диагностически значимо повышается в первые часы заболевания, определять ее после 2-х недельного лечения было бы нецелесообразно.

Для того, чтобы исследовать морфологию миокарда, нами был взят материал у кроликов шести групп: у интактных кроликов 2 группы был взят материал на 3-й сутки пребывания в условиях высокогорья, у животных 3 группы через 48 часов после введения адреналина (на 5-сутки), у подопытных кроликов, получивших нормодипин и коэнзим Q<sub>10</sub> (4- гр.) и плацебо (5 гр.), нами был взят материал на 18-сутки пребывания животных в условия высокогорья.

Взятый материал фиксировался в 4% растворе формалина в фосфатном буфере рН=7,4 0,2 М. После обезжизивания объекты заливались в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивались гематоксилин-эозином по Эрлиху для выявления площади поражения (кардионекроза) и площади контрактурных повреждений. Исследование проводилось методом точечного счета с помощью окулярной морфометрической сетки [13].

### Результаты и их обсуждение.

Функциональное исследование сердце у кроликов с моделированным катехоламиновым некрозом миокарда показало резкое возрастание частоты сердечных сокращений (ЧСС) с 261±13 до 452±9,61 ударов в мин (p<0,001), продолжительность зубца Р уменьшалась - с 0,027±0,002 до 0,01±0,002 мм/сек (p<0,001), интервалы между зубцами Р-Q сократились с 0,08±0,027 до 0,02±0,004 мм/сек, S-T с 0,09±1,36 до 0,03±0,002 мм/сек и Q-T с 0,13±0,009 до 0,06±0,003 мм/сек., (p<0,001). Отмечалось уменьшение зубца R с 0,68±0,06 до 0,44±0,02 см и зубца T с 0,27±0,02 до 0,20±0,02 см ( p<0,001). Полученные результаты свидетельствуют о появлении ишемических очагов в миокарде. Наблюдалось смещение интервала ST вверх и сокращение интервала QT, что указывало на развитие некроза миокарда.

Анализ электрокардиограммы у интактных кроликов на 3-й сутки акклиматизации в горах показал, что по сравнению с интактной группой в условиях низкогорья интервал между зубцами PQ сократился с 0,08±0,027 до 0,02±0,002 мм/сек ( p<0,001). Отмечалось уменьшение амплитуды зубца R с 0,68±0,06 до 0,57±0,05 см ( p<0,001).

У группы животных, получавших адреналин, по сравнению с интактными в условиях высокогорья резко сократилась продолжительность сердечного цикла R-R с 0,28±0,004 до 0,13±0,002 (мм/сек) ( p<0,001). Увеличилась частота сердечных сокращений с 292±6 до 461±9 ударов в мин., также наблюдалось уменьшение зубца R с 0,57±0,05 до 0,51±0,08 см. и зубца T с 0,28±0,02 до 0,12±0,02 см. ( p<0,001), что является характерным признаком острого периода инфаркта миокарда.

У кроликов, которым вводился нормодипин в сочетании с коэнзимом Q<sub>10</sub> в течение 14 дней, по сравнению с группой с катехоламиновым некрозом миокарда отмечалось, урежение частоты сердечных сокращений до нормы с 452±9 до 254±9 ударов в минуту ( p<0,001). Удлинялась продолжительность сердечного цикла с 0,13±0,002 до 0,23±0,009 (мм/сек) ( p<0,001). Увеличились значения зубца R с 0,57±0,08 до 0,61 ±0,09 амп (мм) ( p<0,001), зубца T с 0,12±0,02 до 0,23±0,056 амп. (мм) (p<0,001).

У животных, получавших плацебо продолжительность сердечного цикла R-R сохранялась почти такой же, как у кроликов с моделированным катехоламиновым некрозом миокарда, т.е сократилась с 0,13±0,002 до 0,12±0,006 (мм/сек). Отмечалось усиление частоты сердечных сокращений с 254±9 до 493,5±26,6 ударов в минуту ( p<0,001). Регистрировалось уменьшение зубца R с 0,57±0,05 до 0,41±0,042 см и зубца T с 0,28±0,02 до 0,15±0,01 см (p<0,001).

**Аспаратаминотрансфераза (АсАТ).** Уровень аспаратаминотрансферазы в условиях низкогорья после введения адреналина увеличился с 0,07±0,01 до 0,25±0,02 ( p<0,001), что выходит за пределы физиологической нормы [14].

На 3-й день пребывания животных в условиях

высокогорья уровень аспаратаминотрансферазы повысился с  $0,07 \pm 0,01$  до  $0,12 \pm 0,009$  мкмоль/л ( $p < 0,01$ ). После введения адреналина наблюдалось увеличение уровня аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови кроликов с  $0,12 \pm 0,009$  до  $0,34 \pm 0,02$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) [15].

У животных с моделированным некрозом миокарда и получавших нормодипин в сочетании с КоQ<sub>10</sub>, отмечалось снижение уровня АсАТ с  $0,34 \pm 0,02$  до  $0,09 \pm 0,009$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ). В то же время исследование у подопытных животных с плацебо также показало снижение уровня аспаратаминотрансферазы до верхнего предела физиологической нормы (с  $0,34 \pm 0,02$  до  $0,14 \pm 0,007$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ )).

МВ - КФК (сердечная форма креатинфосфокиназы - КФК).

Результаты исследования, проведенные в условиях низкогорья (табл. 2), показали, что после введения адреналина уровень КФК - МВ в сыворотке крови у кроликов резко повысился с  $195,1 \pm 50,5$  МЕ до  $1157,5 \pm 124,6$  МЕ ( $p < 0,001$ ) [14].

На 3-й день пребывания животных в условиях высокогорья было выявлено, что количество КФК-МВ по сравнению с интактной группой низкогорья, увеличилось с  $195,1 \pm 50,5$  до  $243,6 \pm 68,8$  МЕ. После введения экзогенного адреналина количество его повысилось с  $243,6 \pm 68,8$  до  $1178 \pm 52,1$  МЕ ( $p < 0,001$ ) [14,15].

**Тропонин I.** Определение нами тропонина I в сыворотке крови кроликов через 20 часов после введения адреналина в низкогорье показало (таблица 3), что количество тропонина I достоверно увеличилось в 9 раз ( $0,47 \pm 0,01$  нг/мл до  $3,88 \pm 0,96$  нг/мл, соответственно).

На 3-й день пребывания кроликов в условиях высокогорья количество тропонина I в сыворотке крови увеличилось с  $0,47 \pm 0,01$  нг/мл до  $0,97 \pm 0,05$  нг/мл. Тогда как после введения адреналина на высокогорье у животных наблюдалось увеличение тропонина I в 10 раз до  $4,2 \pm 0,7$  нг/мл ( $p < 0,001$ ) [14,15].

У животных с моделированным некрозом миокарда, после введения нормодипин и КоQ<sub>10</sub> отмечалось достоверное снижение количества тропонина I в сыворотке крови с  $4,21 \pm 0,72$  до  $0,51 \pm 0,008$  нг/мл ( $p < 0,001$ ). У кроликов с искусственной моделью некроза миокарда, получавших плацебо, выявлялось незначительное снижение тропонина I в сыворотке крови с  $4,21 \pm 0,72$  до  $3,36 \pm 0,16$  нг/мл ( $p < 0,001$ ).

Морфология миокарда у контрольных и подопытных кроликов.

Морфологическое исследование миокарда у интактных кроликов показало продольно расположенные кардиомиоциты, в центральных частях которых располагаются ядра с хорошо выраженными ядрышками. В цитоплазме кардиомиоцитов видны миофибриллы с поперечной исчерченностью [16].

При изучении сердечной мышцы у животных в ранние сроки пребывания в горах обнаружены кардиомиоциты с выраженными ядрами и миофибриллами. Отмечались незначительные явления отека

между мышечными клетками. Микрососуды были расширены с широким просветом.

В миокарде кроликов после введения адреналина на 3-й сутки пребывания животных в высокогорье отмечались мелкие очаги некроза, захватывающие от одного до нескольких клеток [17,18].

Морфологическое исследование миокарда у подопытных животных на фоне применения нормодипина в сочетании с КоQ<sub>10</sub> показало хорошо выраженную поперечную исчерченность миофибрилл и уменьшение количества некробиотически измененных кардиомиоцитов. Отмечалось увеличение количества кардиомиоцитов с восстановленными структурами (ядро, миофибриллы).

У кроликов, получавших плацебо микроскопия миокарда показала разрастание соединительной ткани с выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрацией [17, 19].

Таким образом, после введения адреналина на 3-и сутки пребывания животных в условиях высокогорья наблюдалось повышение уровней кардиоспецифических маркеров в сыворотке крови, которое свидетельствовало о повреждении миокарда с дальнейшим развитием некроза сердечной мышцы. Эти изменения в миокарде подтверждались морфологическими исследованиями: выявлены отек миокарда и многочисленные микронекрозы.

После совместного применения нормодипина и КоQ<sub>10</sub> у животных с модельным катехоламиновым некрозом миокарда отмечалось достоверное снижение уровней внутриклеточных ферментов в сыворотке крови. Морфологические исследования миокарда показали увеличение количества кардиомиоцитов с восстановленными структурами.

Полученные нами данные подтверждаются исследованиями других авторов, что применение амлодипина при инфаркте миокарда селективно угнетает транспорт ионов кальция через клеточную мембрану в клетки гладкой мускулатуры сосудов кардиомиоцитов [4, 5, 20]. Сочетание таких биохимических функций коэнзимом Q<sub>10</sub> как непосредственное участие в процессах синтеза энергии в митохондриях в качестве переносчика электронов и его потенциал эффективного антиоксиданта приводят к значительному улучшению функциональных показателей миокарда в условиях гипоксии [8,9,10].

Таким образом, комбинированное применение нормодипина и КоQ<sub>10</sub>, приводит к улучшению функциональных показателей миокарда, вызывает расширение коронарных сосудов, увеличивает коронарный кровоток, в результате чего уменьшается постнагрузка на сердце, улучшается кровоснабжение миокарда и уменьшается потребность миокарда в кислороде.

**Выводы:** Комбинированное применение нормодипина и коэнзима Q<sub>10</sub> у экспериментальных животных с моделированным кардионекрозом способствует благоприятному течению ишемических и некротических процессов, препятствует прогрессированию этих процессов и развитию осложненного течения инфаркта миокарда в условиях высокогорья.

**Литература:**

1. Миррахимов М.М., Мейманалиев Т.С. Высокогорная кардиология.-Фрунзе. -1980. - С. 63-65.
2. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. Наука,-1981. - С.235-23.
3. Ольбинская Л.И., Литвицкий П.Ф., Коронарная и локаральная недостаточность. Издательство «Медици- И». Москва. -1986.-С.159-160.
4. Карпов Ю.А., Сорокин Е.В. Фармакотерапия в Кардиологии: позиции антагонистов кальция. Consilium medicum.- 2004; 06 (5).-С. 18-24
5. Dienfield J E, Detry J M, Sellier P, et al: CAPE II Trial investigators. Medical treatment of myocardial ischemia in coronary artery disease:effect of drug regime and irregular jsing in the CAPE II trial. Am Coll Cardiol 2002;40:917-2
6. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А. Коновалова Г.Г., Медведев О.С. и др. Кознзим Q<sub>10</sub>: Длительное введение и гмена. Фармакология: эксперимент и клиника. -2009. -"2.-С.42-43.
7. Кучменко Е.Б., Петухов Д.Н. Влияние комплексов редществеников и модуляторов биосинтеза кофермента на функциональное состояние митохондрий сердца гарых крыс. //Биомедицинская химия. -Москва. -2010 - ом 56.- Выпуск 2. -С.244-250.
8. Аронов Д.М. Что важно знать практическому рачу об убихиноне ( коэнзиме Q<sub>10</sub>). //Русский едидинский журнал. -2006, 14(4).-С. 223-230
9. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Медведев О.С. иодоступность коэнзима Q<sub>10</sub> в различных лекарственных юрмах. //Химико-фармацевтический журнал.-2009.- Том 3.-№ 8.-С.46-49.
10. Лакомкин В.Л., Коновалова Г.Г., Каленикова Е.И., аббарова И.В. Тихазе А.К., Цыпленкова В.Г., Ланкин В.З. ащита коэнзимом Q миокарда крыс при окислительном трессе, индуцируемом пероксидом водорода. // Биохимия.-2004.-Т.69.-№5.-С.639-646.
11. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Коновалова Г.Г., Медведев О.С., Руге Э.К., Ланкин В.З. Влияние лительного ведения и последующей отмены коэнзима Q<sub>10</sub> на его содержание в миокарде и сыворотке крови крыс. //Фармация,- 2009,-№2.-С.42-44.
12. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Колокольчикова Е.Г., Шашурин Д.А., Медведев О.С. Хроническое введение коэнзима Q<sub>10</sub> ограничивает постинфарктное ремоделирование миокарда у крыс. //Биохимия.-2007.- Т.72.-№3.-С.407-415
13. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. - М. Медицина. -1980.-С.213.
14. Махмудова Ж.А., Алдашев А.А., Зурдинов А.З.Особенности изменения уровней кардиоспецифических маркеров в сыворотке крови кроликов при моделировании катехоламинового некроза миокарда в условиях высокогорья. //Известия НАН КР. -2010. -№ 4.- С.84-88
15. Фаравава М., Исаева А., Омуралиев У., Бекташ уулу У.,Махмудова Ж.А. Изменения уровней кардиоспецифических маркеров в разные периоды акклиматизации при катехоламиновом некрозе миокарда в эксперименте. // Вестник КГМА им. И.К Ахунбаева.-2011. -№3 -С. 50-54. -
16. Баатырбекова А.К., Кубанычбек уулу Н., Алдаярова А.Ш., Махмудова Ж.А. Эффективность применения коэнзима Q<sub>10</sub> в профилактике инфаркта миокарда в эксперименте. //Вестник КГМА им. И.К.Ахунбаева.-2011. -№ 2.- С.13-17.
17. Махмудова Ж.А. Профлактика инфаркта миокарда коэнзимом Q<sub>10</sub> при кратковременном пребывании животных в условиях высокогорья в эксперименте. //Известия ВУЗов.-2011,- № 6. -С. 73-77
18. Махмудова Ж. А.Особенности течения катехоламинового некроза миокарда в разные периоды акклиматизации. //Наука и новые технологии.-2012. -№ 2. -С. 64-68
19. Махмудова Ж.А., Алдашев А.А., Зурдинов А.З. Влияние нормодипина на течение острого инфаркта миокарда в эксперименте в условиях высокогорья. //Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева.-2012. -№3. -С.33-39
20. Неклюдова Ю.Н., Звенцова В.К. Терапевтическая эффективность нормодипина у больных нестабильной стенокардией. //Здравоохранение Кыргызстана. -2005. - №1.-С.89-90.

**Рецензент: д.м.н., профессор Кононец И.Е.**