

[https:// 10.36396/MS.2020.62.62.004](https://10.36396/MS.2020.62.62.004)

Митохондриальный антиоксидант пластомитин изменяет энергетический статус и предотвращает развитие систолической дисфункции при доксорубициновой кардиомиопатии

В.Л. ЛАКОМКИН, И.М. СТУДНЕВА, А.А. АБРАМОВ, А.В. ПРОСВИРНИН, О.М. ВЕСЕЛОВА, Е.В. ЛУКОШКОВА, О.И. ПИСАРЕНКО, В.И. КАПЕЛЬКО

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, Москва

Резюме

Цель исследования. Настоящая работа предпринята с целью изучения влияния митохондриального антиоксиданта пластомитина (ПМ, препарат SkQ1) на энергетическое состояние и функцию сердца крыс с кардиомиопатией, вызванной введением доксорубина (ДОКС).

Материалы и методы. Использовали крыс-самцов вистар, которым вводили подкожно ДОКС (2 мг/кг/нед.) в течение 5 недель (группа ДОКС). Животным группы ДОКС+ПМ наряду с доксорубицином 5 недель подкожно вводили ПМ в дозе 0,32 мг/кг ежедневно. Контрольной группе животных в течение 5 недель вводили такой же объем физиологического раствора. Перед началом введения препаратов и через 8 недель у всех крыс была выполнена эхокардиография (ЭхоКГ) левого желудочка (ЛЖ). Дополнительно у части животных была изучена сократительная функция ЛЖ при помощи PV-катетера. Содержание адениннуклеотидов (АТФ, АДФ и АМФ), фосфокреатина (ФКр), креатина (Кр) и лактата в безбелковых экстрактах сердец определяли энзиматическими методами. Дыхание митохондрий в скинированных сапонином волокнах ЛЖ определяли полярографическим методом.

Результаты. В конце исследования у животных группы ДОКС фракция выброса и фракция укорочения были достоверно снижены, а диастолический объем ЛЖ уменьшен по сравнению с этими показателями в контрольной группе. В группе ДОКС+ПМ фракция выброса, фракция укорочения, индекс сократимости миокарда, максимальная скорость развития давления и работа сердца были выше, чем в группе ДОКС, и недостоверно отличались от величин в контроле. Эти изменения сочетались с достоверным увеличением в сердце содержания общего фонда адениннуклеотидов и креатина животных группы ДОКС+ПМ по сравнению с этими показателями у животных, получавших только ДОКС. Показатели скорости дыхания митохондрий в волокнах ЛЖ, выделенных из сердец животных группы ДОКС+ПМ, были выше, чем в группе ДОКС.

Заключение. Применение ПМ предотвращало развитие систолической дисфункции у животных, получавших ДОКС. Это было связано с улучшением окислительного фосфорилирования и сохранением фонда адениннуклеотидов в сердце.

Ключевые слова: доксорубин, пластомитин, кардиомиопатия, крыса, ХСН, энергетический обмен, сократимость миокарда.

Mitochondrial antioxidant plastomitin alters the myocardial energy state and prevented the development of systolic dysfunction in doxorubicin-induced cardiomyopathy

V.L. LAKOMKIN, I.M. STUDNEVA, A.A. ABRAMOV, A.V. PROSVIRNIN, O.M. VESELOVA, E.V. LUKOSHKOVA, O.I. PISARENKO, V.I. KAPELKO

National Medical Research Center for Cardiology, Moscow, Russia

Summary

Aim. This study was designed to explore effects of the mitochondrial antioxidant plastomitin (PM) on the energy state and heart function of rats with cardiomyopathy induced by doxorubicin (Dox) administration.

Material and methods. Male Wistar rats were injected subcutaneously with Dox (2 mg / kg / weekly) for 5 weeks (Dox group). Animals of the Dox + PM group were subcutaneously injected with PM for 5 weeks at a dose of 0.32 mg/kg daily along with Dox. The control group of animals was injected for 5 weeks with the same volume of saline. Before the administration of drugs and after 8 weeks of the study, all rats were underwent echocardiography of the left ventricle (LV). Additionally, the LV contractile function was studied using a PV catheter in some animals. The contents of adenine nucleotides (ATP, ADP and AMP), phosphocreatine (PCr), creatine (Cr) and lactate in protein-free extracts of hearts were determined by enzymatic methods. Mitochondrial respiration in saponin-skinned LV fibers was determined using the polarographic method.

Results. At the end of the study, in animals of Dox group, the ejection fraction, fractional shortening and LV diastolic volume were significantly reduced in comparison with these indices in the control group. In Dox + PM group, the ejection fraction, fractional shortening, myocardial contractility index, maximum rate of pressure development and heart work were significantly higher than in Dox group and did not differ from the control values. These functional alterations were combined with a significant increase in the content of myocardial adenine nucleotide pool and creatine in animals of Dox + PM group compared with these parameters in animals treated with Dox alone. The rate of mitochondrial respiration in LV fibers isolated from the hearts of animals of Dox + PM group was higher than in Dox group.

Conclusion. Treatment with PM prevented the development of LV systolic dysfunction in animals received Dox. This beneficial effect was due to an improvement in oxidative phosphorylation and preservation of myocardial adenine nucleotide pool.

Keywords: doxorubicin, plastomitin, cardiomyopathy, rat, CHF, energy exchange, myocardial contractility.

Сведения об авторах:

Лаборатория экспериментальной патологии сердца Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России:

Лакоткин Владимир Леонидович — к. м. н., в. н. с., тел.: (495) 414-67-55. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5155-7699>

Капелько Валерий Игнатьевич — д. м. н, проф., гл. н. с., тел.: (495) 414-67-54. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3096-7434>

Абрамов Александр Александрович — н. с., тел.: (495) 414-67-55. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8294-8273>

Лукошкова Елена Владимировна — д. м. н., в. н. с., тел.: (495) 414-67-51. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1564-3469>

Лаборатория метаболизма сердца Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России:

Студнева Ирина Михайловна — к. б. н., в. н. с., тел.: (495) 414-67-37. ORCID: 0000-0002-7904-3817.

Писаренко Олег Иванович — д. б. н., гл. н. с., тел.: (495) 414-67-64. ORCID: 0000-0002-1894-5761.

Вeselova Оксана Михайловна — к. б. н., с. н. с., тел.: (495) 414-67-37. ORCID: 0000-0002-9132-8866.

Отдел ультразвуковых методов исследования Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России:

Просвирнин Антон Викторович — врач функциональной диагностики отдела ультразвуковых методов исследования ИКК им. А.Л. Мясникова, тел.: (495) 414-67-49. E-mail: fo_ton@mail.ru

Введение

Сократительная функция кардиомиоцитов обеспечивается взаимодействием трех клеточных систем — системой ионного транспорта, сократительного аппарата и митохондриями, поставляющими энергию для этих систем. Ключевым звеном в этой системе являются ионы Ca^{++} . Повышение их уровня в миоплазме при возбуждении активирует акт сокращения миофибрилл, и одновременно часть ионов Ca^{++} попадает в митохондрии, где Ca^{++} выступает в роли активатора некоторых ключевых ферментов цикла Кребса [1], ускоряя темп синтеза АТФ. Если же по каким-то причинам митохондрии не смогут поставлять нужное количество АТФ для сокращения-расслабления, возникает опасность нерегулируемого повышения Ca^{++} в цитоплазме — это чревато возникновением аритмий или гибелью клетки. Поэтому митохондрии постоянно контролируют количество Ca^{++} -активатора посредством выделения супероксида, обязательно образующегося при прохождении молекул кислорода по электронно-транспортной цепи митохондрий.

Тиоловые группы цистеина белков СР и кальциевых каналов очень чувствительны к редокс-регуляторам [2, 3]. При этом супероксид, окисляя тиоловые группы в умеренных дозах, облегчает выход Ca^{++} из саркоплазматического ретикулума, а в повышенных дозах оказывает противоположное действие. Поэтому в условиях окислительного стресса митохондрии ограничивают выделение Ca^{++} из ретикулума, чтобы снизить функцию и ограничить энергозатраты.

Окислительный стресс в миокарде закономерно возникает в условиях гипоксии-реоксигенации, ишемии-реперфузии, а также при повреждении митохондрий. Одним из распространенных факторов повреждения митохондрий миокарда является эффективный антиопухольный антибиотик доксорубин, применение которого вызывает развитие кардиомиопатии [4]. В результате доксорубин изменяет энергетику кардиомиоцитов, снижая способность митохондрий к окислительному фосфорилированию и нарушая перенос энергии из митохондрий к мио-

фибриллам [5]. Для уменьшения степени повреждения миокарда мы решили использовать синтезированный в МГУ митохондриально-ориентированный антиоксидант SkQ1 (коммерческий препарат пластомитин, ПМ) [6]. Он проникает в клетки и затем в митохондрии благодаря слабому положительному заряду трифенилфосфония, перенося туда молекулу пластохинона — мощного растительного антиоксиданта. Препарат SkQ1 значительно уменьшал аритмии, вызванные пероксидом водорода [6], а также уменьшал размеры инфаркта миокарда при ишемии и реперфузии [7] и улучшал восстановление функции сердца после ишемии-реперфузии [8]. Однако исследования, выполненные с применением митохондриальных антиоксидантов при ХСН, в современной литературе отсутствуют. В связи с этим цель данной работы состояла в изучении влияния введения ПМ в организм лабораторных животных на повреждения метаболизма и функции сердца, возникающие при длительном применении ДОКС.

Методика

В работе использованы крысы-самцы вистар весом 250–300 г. Исходно было отобрано 34 животных. Все манипуляции с лабораторными животными производили в соответствии с Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными, с требованиями этического комитета ФГБУ «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ и принципами национального стандарта ГОСТП 53434-2009. Крыс после ЭхоКГ разделили на 3 группы: 10 — в контрольной и по 12 голов в экспериментальных группах с ДОКС и ДОКС+ПМ. ДОКС (Адриабластин, Pfizer, Германия) вводили подкожно в дозе 2 мг/кг ежедневно в течение 5 недель, причем половина животных наряду с ДОКС подкожно получала ПМ в дозе 0,32 мг/кг ежедневно. Животным контрольной группы 5 недель вводили подкожно равный объем физиологического раствора. Перед началом введения препаратов и через 8 недель у всех крыс была выполнена эхокардиография (ЭхоКГ).

Трансторакальная ЭхоКГ была выполнена на аппарате фирмы FUJIFILM VisualSonics модель Vevo 1100 (Нидерланды) с линейным датчиком 13–24 МГц и максимальной глубиной лоцирования 30 мм. У крыс под наркозом (Золетил 100, Virbac Sante Animale, Франция, 5 мг/кг) выбривали переднюю стенку грудной клетки, использовали парастернальный доступ по короткой и длинной осям. В В-режиме измеряли диастолические и систолические размеры ЛЖ, на их основе рассчитывали объем ЛЖ в диастоле и систоле, толщину стенок, а также фракцию выброса. Полученные изображения сохраняли на приборе Vevo 1100 для дальнейшего анализа и затем их архивировали на внешних носителях.

Инвазивное исследование сократительной функции сердца выполняли у наркотизированных (Золетил 100, 5 мг/кг) крыс при помощи стандартного PV-катетера FTH-1912B-8018, усилителя ADV 500 (Transonic, Канада), а также АЦП PowerLab 4/35 с программой LabChart 8.1 (ADInstruments, Австралия). Левый желудочек (ЛЖ) катетеризировали через правую сонную артерию PV-катетером, а яремную вену — полиэтиленовым катетером PE-60. Регистрацию параметров гемодинамики и сократительной функции начинали после поиска оптимального места расположения измерительного катетера в ЛЖ путем перемещения вдоль длинной оси желудочка.

Для изучения энергетических метаболитов у части животных под наркозом выполняли торакотомию и быстро замораживали сердца шипцами Волленбергера, охлажденными в жидком азоте. Замороженную ткань гомогенизировали в холодной 6%-ной HClO_4 (10 мл/г ткани) в гомогенизаторе Ultra-Turrax T-25 (IKA-Labortechnik, Германия). Белки осаждали центрифугированием (центрифуга Sorvall RT1, Thermo Fisher Scientific, США) при 2800 g в течение 10 минут при 40 °С. Супернатанты нейтрализовали 5 М K_2CO_3 до pH 7,4. Осадок KClO_4 отделяли центрифугированием в тех же условиях. Безбелковые экстракты хранили при –200 °С до определения метаболитов. Сухой вес гомогенизированной ткани определяли после высушивания образцов в течение суток при 110 °С. АТФ и ФКр в тканевых экстрактах определяли энзиматически, используя глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, гексокиназу и креатинкиназу [9]. Содержание АДФ и АМФ в тканевых экстрактах определяли с помощью миокиназы, пируваткиназы и лактатдегидрогеназы [10]. Для определения креатина использовали сопряженные реакции с креатинкиназой, пируваткиназой и лактатдегидрогеназой [11]. Лактат определяли с помощью лактатдегидрогеназы [12]. Измерения выполнены на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония). Содержание метаболитов выражали в мкмоль/г сухого веса. Измерения, выполненные после опыта, занимали несколько больше времени в связи с необходимостью аккуратного удаления катетера из ЛЖ. Скинирование сапонином волокон из миокарда ЛЖ проводили как указано в работе [13]. Исследуемую часть ЛЖ сердца крысы вырезали и немедленно помещали в охлажденный раствор А, содержащий 2,77 мМ CaK_2EGTA , 7,23 мМ K_2EGTA , 6,56 мМ $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,5 мМ ДТТ, 50 мМ КМЕС, 20 мМ имидазол, 20 мМ таурин, 5,3 мМ АТР, 15 мМ фосфокреатин (pH=7,1). Выделенные со стороны эндокарда параллельные волокна были разделены на пучки длиной 3–4 мм и толщиной около 1 мм. Волокна инкубировали в растворе А с сапонином (50 мкг/мл) в течение 30 минут при температуре 4 °С и перемешивании с целью частичного скинирования мембраны [14]. Затем пучки волокон отмывали от сапони-

на и инкубировали в течение 30 минут (3 раза по 10 минут) в растворе Б: 2,77 мМ $\text{CaK}_2\text{ЭГТА}$, 7,23 мМ $\text{K}_2\text{ЭГТА}$, 1,38 мМ MgCl_2 , 0,5 мМ ДТТ, 100 мМ КМЕС, 20 мМ имидазол, 20 мМ таурин, 3 мМ K_2HPO_4 (pH=7,1), содержащим 2 мг/мл бычьего сывороточного альбумина, свободного от жирных кислот. Дыхание митохондрий оценивали с помощью электрода Кларка и полярографа Oxygraph plus system (Hansatech Instr., UK) при 22 °С, были выбраны следующие параметры: скорость потребления кислорода на субстратах, в качестве которых использовались 10 мМ глутамат и 5 мМ малат. АДФ-зависимую скорость дыхания стимулировали 2 мМ АДФ. После измерений волокна извлекали из полярографической ячейки, высушивали при температуре +95 °С и затем взвешивали, что позволяло нормировать параметры дыхания на 1 мг сухого веса. Статистическая обработка результатов была выполнена с применением t-теста Стьюдента.

Результаты

Исходные показатели ЭхоКГ в исследуемых группах животных не различались (таблица 1а). В дальнейшем мы сравнивали экспериментальные группы животных с контрольной группой того же помета и возраста, а не с исходными показателями в группах, так как со временем по мере роста животных эти показатели изменялись.

Введение ДОКС сопровождалось задержкой роста животных — их масса незначительно увеличилась по сравнению с исходной и через 8 недель была снижена на 20% по сравнению с контрольными животными. Результаты ЭхоКГ-исследования, выполненного через 8 недель после начала введения ДОКС, показали наличие систолической дисфункции сердца (таблица 1б). Фракция выброса и фракция укорочения были снижены на 22–23%, это сочеталось с уменьшением диастолического объема ЛЖ на 28%.

Крысы, которым одновременно с ДОКС вводили ПМ, также замедляли свой рост, их вес был меньше на 13% по сравнению с контролем, но все же был выше по сравнению с крысами, получавшими только ДОКС. Конечный диастолический объем ЛЖ у них был снижен на 34%, но фракция выброса и фракция укорочения не отличались от контроля и были достоверно выше на 22 и 18% соответственно по сравнению с группой ДОКС. Таким образом, применение ПМ предотвратило развитие систолической дисфункции у животных, получавших ДОКС. Показатель

Таблица 1а. Исходные ЭхоКГ-показатели функции сердца крыс до начала эксперимента

	Контроль	ДОКС	ДОКС+ пластомитин
Количество животных	10	12	12
Вес, г	341±20	353±28	319±9
ЧСС/мин.	475±17	459±16	467±34
КДО, мл	0,29±0,08	0,22±0,03	0,26±0,06
ФВ, %	83±3	81±5	76±10
ФУ, %	49±2	48±3	45±6
Е/а	2,08±0,17	2,33±0,31	2,15±0,1

Таблица 1б. ЭхоКГ-показатели функции сердца крыс через 8 недель исследования

	Контроль	ДОКС	ДОКС+ пластомитин
Количество животных	8	12	12
Вес, г	440±15	354±9 ***	383±6 ** #
ЧСС/мин.	432±19	433±5	444±7
КДО, мл	0,29±0,04	0,21±0,01 **	0,19±0,01 **
ФВ, %	71±3	55±2,5 **	67±2,4###
ФУ, %	42±2	33±1,5 **	39±1,4#
E/a	2,37±0,14	2,26±0,05	2,12±0,08

Примечание. **p<0,01,*** p<0,001 по сравнению с контролем. # p<0,05, ## p<0,01 по сравнению с ДОКС.

E/a, характеризующий скорость быстрого наполнения ЛЖ, был немного снижен в обеих экспериментальных группах по сравнению с контролем.

Измерение показателей энергетического обмена в миокарде, выполненное с помощью быстрого замораживания сердца *in situ* в жидком азоте, показало, что у крыс, получавших ДОКС, уровень АТФ, так же как и общий пул адениннуклеотидов, близок к контрольным величинам (таблица 2). Однако содержание фосфокреатина (ФКр) и отношение ФКр/АТФ было снижено вдвое. Эти изменения сочетались со значительным повышением уровня лактата, что свидетельствует о мобилизации анаэробного гликолиза.

У крыс, которым одновременно с ДОКС вводили ПМ, наблюдалось еще большее снижение ФКр и отношения ФКр/АТФ, а также повышение уровня лактата. Однако наряду с этими типичными для действия ДОКС изменениями были выявлены положи-

тельные изменения в содержании адениннуклеотидов. Их общий пул был выше, чем в контроле, за счет повышенного содержания АДФ. Естественно, что и уровень АДФ, и общий пул адениннуклеотидов были достоверно выше по сравнению с величинами в группе, получавшей только ДОКС. Содержание креатина в группе ДОКС+ПМ было достоверно выше, чем в группе ДОКС и в контроле при неизменном содержании общего креатина.

Также энергетические метаболиты в группе ДОКС были измерены после острого опыта. При этом пул адениннуклеотидов сохранялся, но содержание фосфокреатина и отношение ФКр/АТФ было снижено в три раза по сравнению с этими показателями в группе ДОКС до опыта, а содержание лактата было повышено вдвое, что, вероятно, связано с задержкой извлечения сердца, как указано в методике.

В специальной серии опытов в каждой группе (n=4) было измерено дыхание митохондрий в скинированных волокнах ЛЖ. Скорость дыхания в состоянии V4 (в отсутствие АДФ) и V3 (при добавлении АДФ) в миокарде крыс, получавших ДОКС, была снижена по сравнению с контролем (1,0±0,3 и 3,9±1,0 против 1,7±0,2 и 11,8±3,8 нмоль O₂/мин./мг сухого веса). В группе с добавлением ПМ эти величины составляли соответственно 1,8±0,7 и 6,7±1,8 нмоль O₂/мин./мг сухого веса, то есть были почти вдвое выше, чем в группе ДОКС.

Катетеризация ЛЖ позволила получить представление о состоянии сократимости миокарда и сократительной функции сердца (таблица 3). Выяснилось, что применение ДОКС не изменило величину минутного объема, отнесенного к единице массы, но существенно изменило параметры функции миокарда. Так, частота сокращений была снижена на 23%, а КДО — на 19%. Фракция выброса была меньше на 24% за счет сниженного индекса сократимости миокарда на 27% и максимальной скорости развития давления более чем вдвое. Естественно, была снижена на 34% и работа сердца. Систолическая дисфункция этих сердец сочеталась, однако, с мало измененной максимальной скоростью выброса из ЛЖ.

Таблица 2. Показатели энергетического метаболизма сердца крыс через 8 недель исследования

	Контроль	ДОКС	ДОКС+ пластомитин	ДОКС
	Перед острым опытом			После острого опыта
Количество животных	3	5	6	10
АТФ	13,7±0,8	10,9±2,0	13,5±1,3	11,2±1,1
АДФ	5,7±0,2	5,7±0,4	7,5±0,4 ** #	8,3±0,4
АМФ	1,5±0,4	1,2±0,2	2,6±0,5	3,0±0,3
ΣАН	21,0±0,3	17,8±1,8	23,7±0,9 #	22,1±1,5
ЭЗ	0,79±0,03	0,76±0,04	0,73±0,03	0,69±0,01
ФКр	27,4±0,3	13,1±4,9 *	8,5±2,3 ***	4,3±1,5
Кр	40,3±0,7	38,2±4,1	53,8±2,3 ***#	56,4±2,1***#
ΣКр	67,7±0,9	51,3±4,4 *	62,2±2,9	59,3±2,8
ФКр/АТФ	2,01±0,12	1,01±0,3 *	0,57±0,14 ***	0,31±0,09
Лактат	1,7±0,3	16,7±4,8 *	22,2±6,4 *	36,4±4,9

Примечание. ΣАН — общий фонд адениннуклеотидов (АТФ+АДФ+АМФ), ЭЗ — энергетический заряд кардиомиоцитов (АТФ+0,5АДФ)/ΣАН, ФКр — фосфокреатин, Кр — креатин, ΣКр — общий креатин (ФКр+Кр).

*p<0,05, *** p<0,001 по сравнению с контролем. #p<0,05 по сравнению с группой ДОКС перед опытом.

Таблица 3. Гемодинамические показатели сердца крыс

	Контроль	ДОКС	ДОКС+ пластомитин
Количество животных	7	8	7
Минутный объем, мл/мин./г	0,31±0,02	0,28±0,02	0,27±0,02
Частота сокращений, уд./мин.	361±4	277±15 ***	372±15 #
Конечнодиастолический объем, мл	0,48±0,02	0,39±0,02 *	0,35±0,03 **
Фракция выброса, %	63±2	48±5 *	59±5
Макс. скорость развития давления, мм рт. ст./с	13 290±979	6470±794 ***	10 540±597 #
Индекс сократимости, с-1	128±9	94±6 *	112±5
Работа сердца, мм рт. ст. х мл	44,8±4,2	29,7±3,6 *	31,0±2,1
Конечнодиастолическое давление в ЛЖ, мм рт. ст.	3,0±0,5	5,5±0,9 *	6,6±1,7
Макс. скорость выброса, мл/мин.	11,2±1,1	8,4±0,9	8,6±1,1
Артериальная эластичность Ea, mmHg/ μ L	0,43±0,06	0,29±0,02 *	0,51±0,06 #

Примечание. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем. # $p < 0,001$ по сравнению с группой доксорубицина.

Крысы, получавшие ДОКС+ПМ, имели значительно лучшие функциональные показатели. Так, частота сокращений, фракция выброса, индекс сократимости миокарда, максимальная скорость развития давления и работа сердца превышали величины в группе ДОКС и недостоверно отличались от контрольных величин. Показатель артериальной эластичности Ea, сниженный в группе ДОКС на 33%, был нормализован в группе с добавлением ПМ. Таким образом, применение ПМ одновременно с ДОКС предотвратило развитие систолической дисфункции, развивающейся под влиянием этого антрациклина.

Обсуждение

Основной результат данной работы состоит в том, что применение ПМ вместе с ДОКС предотвратило развитие систолической дисфункции при формировании ХСН. Этот впервые полученный результат был подтвержден как при неинвазивном (ЭхоКГ), так и при инвазивном (катетеризация ЛЖ) исследовании. Отличительными чертами действия ПМ являются сохранение высокой частоты сокращений, усиление сократимости миокарда и повышение артериальной эластичности при уменьшенном объеме ЛЖ. Обсуждение особенностей ремоделирования сердца при действии ПМ выполнено в другой статье [15].

Можно было ожидать, что повышение сократимости миокарда связано с улучшением энергетического состояния миокарда. Однако показатели энергетического обмена в миокарде этой группы оказались не лучшими по сравнению с группой животных, получавших только ДОКС. Более того, содержание фосфокреатина и отношение ФКр/АТФ в группе ДОКС+ПМ было еще ниже, чем в группе ДОКС. Неожиданным для действия ПМ было повышение уровня АДФ и общего фонда адениннуклеотидов не только по сравнению с группой ДОКС, но и с контролем. Причиной такого накопления адениннуклеотидов при значительно сниженном уровне фосфокреатина, вероятно, является нарушение преобразования молекул АТФ в ФКр, осуществляемое митохондриальной креатинфосфокиназой (МтКФК).

Действительно, имеются сведения о нарушении функции этого фермента при доксорубициновом повреждении миокарда — наиболее быстро нарушается связывание МтКФК с мембраной митохондрий и снижается ее активность [16]. Эти эффекты, по-видимому, обусловлены связыванием ДОКС с кардиолипином, образующим комплекс с молекулой МтКФК [1, 16]. Наряду с этим нарушается и фосфорилирование АМР киназы, а также ее субстрата ацетил-СоА-карбоксилазы [17]. Очевидным следствием этого является нарушение работы ферментов цикла Кребса с последующим снижением окислительного фосфорилирования, стимулированного как АДФ, так и креатином [18]. Поэтому наши данные, показавшие почти двукратное увеличение скорости дыхания в скинированных волокнах ЛЖ миокарда крыс, получавших ПМ, могут свидетельствовать о меньшей степени повреждения митохондрий. Также и значительно повышенный общий фонд адениннуклеотидов в этой группе предполагает улучшение окислительного фосфорилирования. Кроме того, увеличение содержания креатина в сердцах животных группы ДОКС+ПМ может способствовать уменьшению окислительного стресса, индуцируемого введением ДОКС [19].

Начальное действие ДОКС на кардиомиоциты сопряжено с изменением экспрессии генов, кодирующих ферменты гликолиза и цикла Кребса [20], которое имеет компенсаторный характер. Наблюдаемое в миокарде крыс группы ДОКС повышенное накопление лактата согласуется с таким представлением. Дальнейшее токсическое действие ДОКС на митохондрии кардиомиоцитов, вероятно, неодинаково. Больше всего должны повреждаться поверхностно расположенные субсарколеммальные митохондрии, отличающиеся наиболее высоким содержанием белков (около 50% всего пула) и высокой скоростью синтеза белков [21]. Эти митохондрии отличаются повышенной чувствительностью к физическим нагрузкам и к окислительному стрессу. Они тесно контактируют с мембранами саркоплазматического ретикула и, вероятно, обеспечивают энергией процесс сопряжения возбуждения с сокращением. Защитное действие ПМ, наблюдаемое в наших опытах при окислительном стрессе или действии адреналина, в наибольшей степени проявлялось именно в предотвращении аритмий [6–8]. Интерфибрилярные митохондрии отличаются наиболее высокой

скоростью дыхания и синтеза АТФ, что вполне объяснимо необходимостью поставлять большие количества АТФ в саркомеры [22]. Поэтому они в большей степени изменяются при длительном действии ДОКС, что проявляется развитием субконтрактуры миокарда и повышением диастолического давления в ЛЖ.

Заключение

Применение митохондриального антиоксиданта ПМ предотвратило развитие у крыс систолической дисфункции, вызванной длительным введением ДОКС. Защитное действие ПМ проявлялось в сохранении частоты сокращений, увеличении сократимости миокарда и повышении артериальной эластичности. Эти эффекты сочетались с изменением энергетического состояния сердца: более высоким содержанием АДФ и общего фонда адениннуклеотидов и четкой тенденцией к увеличению скорости дыхания митохондрий в волокнах ЛЖ. Эти результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения возможности снижения дисфункции ЛЖ, вызванной химиотерапией антрациклинами, с помощью этого соединения.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №18-015-00271 и № 18-015-00008.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Mitry M.A., Edwards J.G. Doxorubicin induced heart failure: Phenotype and molecular mechanisms. *International Journal of Cardiology. Heart & Vasculture*. 2016; 10: 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2015.11.004>
2. Singal P.K., Iliskovic N., Li T., Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention. Federation of American Societies for Experimental. *Biology Journal*. 1997; 11: 931–936. <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.12.9337145>
3. Nohl H., Gille L., Staniek K. The exogenous NADH dehydrogenase of heart mitochondria is the key enzyme responsible for selective cardiotoxicity of anthracyclines. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 1998; 53 (3–4): 279–85.
4. Tokarska-Schlattner M., Wallimann T., Schlattner U. Alterations in myocardial energy metabolism induced by the anti-cancer drug doxorubicin. *Comptes Rendus Biologies*. 2006; 329 (9): 657–668. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2005.08.007>
5. Skulachev V.P., Anisimov V.N., Antonenko Yu.N., Bakeeva L.E., Chernyak B.V., Elichev V.P., Filenko O.F., Kalinina N.I., Kapelko V.I., Kolosova N.G., Kopnin B.P., Korshunova G.A., Lichinitser M.R., Obukhova L.A., Pasyukova E.G., Pisarenko O.I., Roginsky V.A., Ruuge E.K., Senin I.I., Severina I.I., Skulachev M.V., Spivak I.M., Tashlitsky V.N., Tkachuk V.A., Vyssokikh M.Yu., Yaguzhinsky L.S., Zorov D.B. An attempt to prevent senescence: A mitochondrial approach. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009; 1787: 437–461. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.12.008>
6. Бакеева Л.Е., Барсков И.В., Егоров М.В., Исаев Н.К., Капелько В.И., Казаченко А.В., Кирпатовский В.И., Козловский С.В., Лакомкин В.Л., Левина С.В., Писаренко О.И., Плотников Е.Ю., Сапрунова В.Б., Серебрякова Л.И., Скулачев М.В., Стельмашук Е.В., Студнева И.М., Цкитишвили О.В., Васильева А.К., Викторов И.В., Зоров Д.Б., Скулачев В.П. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. Терапия некоторых старческих патологий, опосредованных АФК (сердечной аритмии, инфарктов сердца и почки и инсульта головного мозга). *Биохимия*. 2008; 73 (12): 1607–1621. [Bakeeva L.E., Barskov I.V., Egorov M.V., Isaev N.K., Kapelko V.I., Kazachenko A.V., Kirpatovskiy V.I., Kozlovskiy S.V., Lakomkin V.L., Levina S.B., Pisarenko O.I., Plotnikov E.Yu., Saprunova V.B., Serebryakova L.I., Skulachev M.V., Stelmashuk E.V., Studneva I.M., Tskitishvily O.V., Vasil'eva A.K., Viktorov I.B., 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): 1288–99. (In Russ.)].DOI: 10.1134/s000629790812002x
7. Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Капелько В.И. Митохондриальный антиоксидант SkQ1 уменьшает интенсивность желудочковых аритмий,

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: В.И. Капелько, О.И. Писаренко.

Сбор и обработка материала: В.Л. Лакомкин, А.А. Абрамов, И.М. Студнева, А.В. Просвирнин, Е.В. Лукошкова, О.М. Веселова.

Статистическая обработка: И.М. Студнева, Е.В. Лукошкова, А.А. Абрамов.

Написание текста: В.И. Капелько, О.И. Писаренко, В.Л. Лакомкин.

Редактирование: В.И. Капелько, И.М. Студнева, Е.В. Лукошкова, В.Л. Лакомкин, О.И. Писаренко.

Автор, ответственный за контакт с редакцией: Лакомкин Владимир Леонидович (Lakomkin Vladimir Leonidovich), Раб. тел.: (495) 414-67-55.

Моб. тел.: 8 (916) 089-22-40.

E-mail: v.lakomkin@yandex.ru

Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Поступила 15.12.2019

Принята в печать 29.12.2019

18. Tokarska-Schlattner M., Dolder M., Gerber I., Speer O., Wallimann T., Schlattner U. Reduced creatine-stimulated respiration in doxorubicin challenged mitochondria: particular sensitivity of the heart. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2007; 1767 (11): 1276–1284. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.08.006>
19. Wallimann T., Tokarska-Schlattner M., Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*. 2011; 40 (5): 1271–1296. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0877-3>
20. Tokarska-Schlattner M., Lucchinetti E., Zaugg M., Kay L., Gratia S., Guzun R., Saks V., Schlattner U. Early effects of doxorubicin in perfused heart: transcriptional profiling reveals inhibition of cellular stress response genes. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2010; 298 (4): R1075–R1088. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00360.2009>
21. Boengler K., Kosiol M., Mayr M., Schulz R., Rohrbach S. Mitochondria and ageing: role in heart, skeletal muscle and adipose tissue. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2017; 8 (3): 349–369. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12178>
22. Schwarzer M., Schrepper A., Amorim P.A., Osterholt M., Doenst T. Pressure overload differentially affects respiratory capacity in interfibrillar and subsarcolemmal mitochondria. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2013; 304 (4): H529–H537. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00699.2012>