Scientific and Practical Journal
PHARMACY & PHARMACOLOGY
(ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ)

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

УДК 57.085.1:615.038

Анализ эффективности действия митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на модели ишемии и реперфузии миокарда крыс. Акцент на морфологическом и ультраструктурном исследовании ткани

Е.А. Сенокосова[1], Е.А. Великанова[1], Р.А. Мухамадияров[1], О.Д. Сидорова[2], Е.О. Кривкина[1], Л.В. Антонова[1], Е.В. Григорьев[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», 650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый б-р, д. 6
[2] Государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение «Кузбасский медицинский колледж», 650991, Россия, г. Кемерово, ул. Николая Островского, д. 10

E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Получена 06.02.2024 После рецензирования 11.10.2024 Принята к печати 20.11.2024

Митохондриально-направленный антиоксидант SkQ1 демонстрирует высокую эффективность на разных экспериментальных моделях и может занять важное место в минимизации постоперационных осложнений при проведении операций на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения или консервации трансплантата.

Цель. Оценить степень сохранности и изменений изолированного сердца крысы, которое подверглось длительной кардиоплегической ишемии, при условии донации разных концентраций SkQ1.

Материалы и методы. Исследование эффективности SkQ1 (12 нг/мл, 120 нг/мл и контрольная группа – без донации SkQ1) проведено на модели изолированного сердца крыс линии Wistar (*n*=15) по Лангендорфу. Провели биохимический анализ (супероксиддисмутазы 2 [СОД-2], малонового диальдегида [МДА] тропонин-I, сердечного белка, связывающего жирные кислоты [с-БСЖК]), гистологию ткани (окраска гематоксилин-эозином), сканирующую электронную микроскопию в обратно-рассеянных электронах и иммунофлуоресцентную окраску на цитохром С и редуктазу цитохрома Р-450. Количественные данные обрабатывали в программе GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, США).

Результаты. Наибольшая сохранность ткани миокарда выявлена при поддержке SkQ1 в концентрации 12 нг/мл: наименьшие концентрации МДА (49,5 [41,1; 58,9] мкмоль/г), тропонин-I (22,3 [20,3; 23,9] пг/мл), с-БСЖК (0,8 [0,6; 16,0] нг/мл) логично сочетались с обширными зонами с сохранением поперечной исчерченности, умеренным интерстициальным отёком. Также выявлены недеформированые митохондрии, расположенные между сократительными волокнами, иммунофлуоресценция цитохрома С была распределена локально, интенсивность свечения на 40% выше в сравнении с контролем (p <0,0001). Увеличение концентрации SkQ1 до 120 нг/мл скорее способствовало усугублению окислительного стресса: концентрации МДА (63,8 [62,5; 83,0] мкмоль/г) и с-БСЖК (12,8 [4,1; 15,3] нг/мл) была ближе к контрольным значениям. Миокард данной группы охарактеризован резко выраженным отёком, фрагментацией мышечных волокон, некоторые группы кардиомиоцитов находились в состоянии глыбчатого распада, миоцитолиза и внутриклеточного отёка. Цитохром С был распределён равномерно в цитозоле кардиомиоцитов.

Заключение. SkQ1 в концентрации 12 нг/мл проявлял выраженные антиоксидантные свойства в отношении ишемизированного миокарда, что позволило получить более высокую степень сохранности сердечной мышцы в сравнении с применением SkQ1 в концентрация 120 нг/мл, которая усугубила окислительный стресс и структурные изменения ткани.

Ключевые слова: пластомитин; SkQ1; изолированное сердце крысы; окислительный стресс; ишемия-репефузия; перфузия по Лангендорфу; гистология; сканирующая электронная микроскопия; иммунофлуоресценция

Список сокращений: АФК – активные формы кислорода; АТФ – аденозинтрифосфат; СОД – супероксиддисмутаза; ОС – окислительный стресс; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ИК – искусственное кровообращение; SkQ1 – ионы Скулачёва с пластохиноном; МДА – малоновый диальдегид; с-БСЖК – сердечный белок, связывающий жирные кислоты; ИФА – иммуноферментный анализ; СЭМ – сканирующая электронная микроскопия.

Для цитирования: Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров, О.Д. Сидорова, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев. Анализ эффективности действия митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на модели ишемии и реперфузии миокарда крыс. Акцент на морфологическом и ультраструктурном исследовании ткани. *Фармация и фармакология.* 2024;12(3):219-230. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

© Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров, О.Д. Сидорова, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев, 2024

For citation: E.A. Senokosova, E.A. Velikanova, R.A. Mukhamadiyarov, O.D. Sidorova, E.O. Krivkina, L.V. Antonova, E.V. Grigoriev. Analysis of mitochondrial-targeted antioxidant skq1 effectiveness on myocardial ischemia-reperfusion injury in a rat model: Focus on morphological and ultrastructural tissue study. *Pharmacy & Pharmacology.* 2024;12(3):219-230. **DOI:** 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ
(PHARMACY & PHARMACOLOGY)

Analysis of mitochondrial-targeted antioxidant SkQ1 effectiveness on myocardial ischemia-reperfusion injury in a rat model: Focus on morphological and ultrastructural tissue study

E.A. Senokosova[1], E.A. Velikanova[1], R.A. Mukhamadiyarov[1], O.D. Sidorova[2], E.O. Krivkina[1], L.V. Antonova[1], E.V. Grigoriev[1]

[1] Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6 Barbarash Blvd., Kemerovo, Russia, 650002
[2] Kuzbass Medical College,
10 N. Ostrovskiy Str., Kemerovo, Russia, 650991

E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Received 06 Feb 2024 After peer review 11 Oct 2024 Accepted 20 Nov 2024

Mitochondrial-targeted antioxidant SkQ1 demonstrates a high efficiency in animal models and potentially can be used for minimizing postoperative complications in an on-pump open-heart surgery.

The aim of study was to the assessment of preservation degree and changes in the isolated rat heart characterized by prolonged cardioplegic ischemia, under the condition of donation of different SkQ1concentrations.

Material and methods. Isolated Langendorff-perfused rat hearts of Wistar line (*n*=15) were included in the presented study; the effectiveness of 12 ng/mL and 120 ng/mL of SkQ1 was analyzed. A biochemical analysis (superoxide dismutase 2 [SOD2], malondialdehyde [MDA], Troponin-I, heart-type fatty acid-binding protein [H-FABP]), a histological analysis of tissues (hematoxylin and eosin staining), scanning electron microscopy using backscattered electrons and immunofluorescence staining for cytochrome C and cytochrome P450 reductase were performed. The quantitative data were processed using GraphPad Prism 7 (Graph Pad Software, USA).

Results. The optimal myocardial preservation was discovered while using 12 ng/mL of SkQ1: the lowest concentrations of MDA (49.5 [41.1; 58.9] mmol/g), Troponin-I (22.3 [20.3; 23.9] pg/mL) and H-FABP (0.8 [0.6; 16.0] ng/mL) were associated with extensive areas of tissues with preserved transverse dark and light bands and a moderate interstitial edema. Moreover, non-deformed mitochondria were located mainly between the contractile fibers. Cytochrome C immunofluorescence was distributed locally, the luminescence intensity was 40% higher compared to the control group (p <0.0001). Increasing SkQ1 concentration to 120 ng/mL contributed to the aggravation of oxidative stress: MDA (63.8 [62.5; 83.0] mmol/g) and H-FABP (12.8 [4.1; 15.3] ng/mL) concentrations were closer to the control group values. Myocardial tissue in this group was characterized by a pronounced edema and a fragmentation of muscle fibers. There were signs of cardiomyocyte decay, myocytolysis and an intracellular edema. Cytochrome C was distributed evenly.

Conclusion. 12 ng/mL of SkQ1 demonstrates pronounced antioxidant effects in the ischemic myocardium leading to a higher degree preservation of the heart muscle compared to 120 ng/mL of SkQ1 that was associated with an aggravated oxidative stress and structural changes of the tissue.

Keywords: plastomitin; SkQ1; isolated rat heart; oxidative stress; ischemia-reperfusion injury; Langendorff perfusion; histology; scanning electron microscopy; immunofluorescence

Abbreviations: ROS – reactive oxygen species; ATP – adenosine triphosphate; SOD – superoxide dismutase; OS – oxidative stress; CVDs – coronary vascular diseases; AC – artificial circulation; SkQ1 – Skulachov's ions with plastoquinone; MDA – malondialdehyde; H-FABP – heart-type fatty acid-binding protein; ELISA – enzyme-linked immunoassay; SEM – scanning electron microscopy.

ВВЕДЕНИЕ

Антиоксиданты представляют собой молекулы, которые ингибируют реакции свободных радикалов с другими биологическими молекулами, тем самым поддерживая клеточный окислительно-восстановительный гомеостаз, и, как конечный итог, – антиоксиданты сохраняют функцию и структурную целостность клетки [1]. Свободные радикалы в живых системах (в основном активные формы кислорода [АФК]), в норме образуются в митохондриях при окислительном метаболизме генерации аденозинтрифосфата (АТФ): пероксид водорода, супероксид, синглентный кислород, гидроксильный радикал и некоторые другие [2, 3]. Антиоксиданты разделяются на эндогенные – синтезируемые в организме (супероксиддисмутаза [СОД], каталаза, глутатионпероксидаза, α-токоферолом, глутатион и другие) [4–6], и экзогенные – синтетические, поступающие в организм с пищей или инъекционным путём (каротиноиды, флавоноиды, ликопин, лютеин, витамины) [7–10].

При многих патологических процессах происходит рост АФК и развитие окислительного стресса (ОС) по механизму обратной связи [11, 12]. Различные сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) несут в себе ОС как звено паталогического процесса [13]. ОС оказывает особую нагрузку на миокард при операциях на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения (ИК) и вносит свой вклад в процесс послеоперационного восстановления пациента

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

[14]. Также ОС играет важную роль в пригодности трансплантата: способы консервации изучаются и совершенствуются и в настоящее время [15, 16]. Нарушение баланса «антиоксидант–оксидант» требует дополнительной антиокислительной поддержки, и, принимая во внимание тот факт, что главенствующая роль митохондрий в генерировании АФК, а именно депонирование в них антиоксидантов, является перспективным направлением в синтезе и изучении митохондриально-направленных антиоксидантов.

В конце 1960-х академик В.П. Скулачёв впервые разработал молекулу, которая успешно накапливалась в митохондриях – это трифенилфосфоний. Дальнейшие исследования привели к выделению целого класса соединений на её основе, которому дали название «ионы Скулачёва» [17].

Наша работа посвящена изучению одного из «самых сильных ионов Скулачёва», особенностью которого является наличие пластохинона (SkQ1) как антиоксидантной составляющей молекулы [18]; в нее также входят декаметиленовый линкер и липофильный катион, которые способствуют успешному проникновению и встраиванию антиоксиданта в мембрану митохондрий [19–21]. Проведение экспериментального исследования *ex vivo* на изолированном сердце крысы позволило смоделировать клиническое состояние миокарда, которое подвергали ИК, изучить изменения на тканевом и клеточном уровнях и определить наиболее эффективную концентрацию SkQ1.

ЦЕЛЬ. Оценить степень сохранности и изменений изолированного сердца крысы, которое подверглось длительной кардиоплегической ишемии, при условии донации разных концентраций SkQ1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Блок-схема дизайна представлена на рисунке 1.

Продолжительность исследования и условия проведения

Препарат «Пластомитин» (концентрат SkQ1 – 1,7 мг/мл) был предоставлен в рамках договора о научном сотрудничестве с ООО «Митотех» (Москва, Россия). Рабочие растворы SkQ1 были приготовлены путём разведения концентрата перфузионным раствором.

Эксперименты над здоровыми крысами линии Wistar (♂, средняя масса 300±50 г, *n*=30) проводили в соответствии с правилами Европейской конвенции (Strasbourg, France, 1986). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Световой день составлял 8 часов свет и 16 часов животные пребывали без света при влажности 68%. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (протокол № 22 от 10 декабря 2015 г.). Исследование проводили с ноября по декабрь 2022 года на научно-технической базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (Кемерово, Россия).

Перфузию изолированного сердца проводили по Лангендорфу при постоянном давлении столба жидкости 80 см вод. ст. Для перфузии был использован раствор Кребса-Гензелейта (ммоль/л): натрия хлорид – 118,0, натрия гидрокарбонат – 25,0, глюкоза – 11,0, калия хлорид – 4,8, калия гидрофосфат – 1,2, магния сульфат – 1,2; кальция (II) хлорид – 1,2, обогащённый смесью газов – 95% кислорода и 5% оксида углерода (II), pH=7,4 с поддержанием температуры от 37 до 38°C.

Протокол перфузирования

Стабилизацию сокращений сердца (перфузия раствором Кребса-Гензелейта) проводили 20 минут; подключение 2-го потока перфузионного раствора с SkQ1 – 10 минут; гипоперфузию (20 мл/ч) охлаждённым (t=4°C) кардиоплегическим раствором (кустодиол, Dr. F.KOHLER CHEMIE, GmbH, Германия) – 10 минут; глобальную кардиоплегическую ишемию – 240 минут (t=8°C); реперфузию – 30 минут. Сердца первой опытной группы перфузировали двойным потоком раствором Кребса–Гензелейта с SkQ1 в концентрации 120 нг/мл. Сердца второй опытной группы перфузировали аналогично 1 группе с отличием в концентрации SkQ1, которая составила 12 нг/мл.

Сформированные группы

Первая опытная группа сердец «SkQ1 120 нг» (*n*=10), вторая – «SkQ1 12 нг» (*n*=10), перфузируемые по вышеописанному протоколу. Контрольная группа (*n*=10) исключала добавление SkQ1 во 2-й поток перфузионного раствора.

Исследуемые параметры

Биохимические показатели

Методом иммуноферментого анализа измерены митохондриальная супероксиддисмутаза (СОД-2; EU2577, Wuhan Fine Biotech, Китай), сердечный белок, связывающий жирные кислоты (с-БСЖК; HK414, HycultBiotech, Нидерланды), сердечный тропонин (тропонин I; CSB-E08594r, CUSABIO BIOTECH Co., Китай). Малоновый диальдегид (МДА) определен с помощью набора OxiSelect™ TBARS Assay Kit MDA Quantitation (STA-330, Cell Biolabs, США).

Гистология

Эксплантированные образцы фиксировали в 10% забуференном формалине (B06-001/M, ООО «Биовитрум», Россия) в течение 24 ч, затем промывали водой для удаления фиксирующего

раствора и обезвоживали в IsoPrep 06-002/M (ООО «Биовитрум», Россия), оставляя в последней порции на 18 ч. Затем образцы пропитывали 3 порциями парафина при 56°C в течение 60 мин в каждой порции. Пропитанные образцы заливали гистомиксом 247 (ООО «Биовитрум», Россия). Далее изготавливали срезы толщиной 8 мкм с помощью микротома HM 325 (Thermo Scientific, США), помещали в термостат и сушили 18 ч при 37°C. После образцы депарафинизировали в 3 порциях о-ксилола (103118 АО «ЛенРеактив», Россия) в течение 1–2 мин и дегидратировали в 3 порциях 96% спирта также в течение 1–2 мин. Срезы окрашивали гематоксилином Гарриса (05-004, ООО «Биовитрум», Россия) в течение 15–20 мин, с дальнейшей промывкой в воде до 10 мин. Далее на срез наносили несколько капель эозина (05-011/L, ООО «Биовитрум», Россия) на 30°C и промывали в воде. После срез помещали в 96% спирт. Просветление срезов проводили в о-ксилоле несколько минут с его дальнейшим удалением. На последнем этапе срезы заключали в монтирующую среду Витрогель (12-005, ООО «Биовитрум», Россия). Образцы исследовали методом световой микроскопии с использованием микроскопа AXIO Imager A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении объективов ×50, ×200 и ×400.

Сканирующая электронная микроскопия

Образцы фиксировали в 4% забуференном формалине в течение 24 ч, затем постфиксировали 1% тетраоксидом осмия в 0,1 М фосфатном буфере (10010001, Gibco, США) и окрашивали 2% тетраоксидом осмия (7563, Sigma-Aldrich, США) в бидистиллированной воде в течение 48 ч. Далее образцы обезвоживали в серии этанола возрастающей концентрации (50, 60, 70, 80 и 95%), окрашивали 2% уранилацетатом (22400-2, Electron Microscopy Sciences, США) в 95% этаноле, обезвоживали 99,7% изопропанолом (06-002/M, ООО «Биовитрум», Россия) в течение 5 ч и ацетоном (ОКП241811ОНО, ООО АО РЕАХИМ, Россия) в течение 1 ч, пропитывали смесью ацетона с эпоксидной смолой Epon (14910, Electron Microscopy Sciences, США) в соотношении 1:1 (6 ч). После образцы переносили в свежую порцию эпоксидной смолы (на 24 ч) и далее проводили её полимеризацию в емкостях FixiForm (40300085, Struers, Дания) при 60°C. Затем образцы в эпоксидных блоках подвергали шлифовке и полировке на установке TegraPol-11 (60799, Struers, Дания). Контрастирование цитратом свинца проводили по Рейнольдсу в течение 7 мин путём нанесения раствора на поверхность шлифованного образца с последующей его отмывкой бидистиллированной водой. Далее проводили напыление на полированную поверхность эпоксидных блоков углерода (толщина покрытия 10–15 нм) с помощью вакуумного напылительного поста EM ACE200 (Leica, Германия). Визуализацию структуры образцов проводили при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах на электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 кВ.

Конфокальная микроскопия

Из замороженных образцов миокарда крыс (8 образцов сердца) с помощью криотома Microm HM 525 (Thermo Scientific, США) готовили серийные криосрезы толщиной 8 мкм с интервалом 100 мкм. Препараты фиксировали в 4% растворе параформальдегида в течение 10 мин. Для пермеабилизации срезы обрабатывали 0,1% раствором Triton-X100 (Sigma-Aldrich, США) в течение 15 мин. Далее на срезы наносили смесь первичных антител (мышиные антитела к цитохрому C (ab13575, Abcam, Великобритания) и кроличьи антитела к редуктазе цитохрома P-450 (ab180597, Abcam, Великобритания) и икубировали 18 ч при 4°C. Затем срезы промывали и инкубировали со смесью вторичных антител (антитела козы к IgG кролика, конъюгированные с Alexa Fluor 488-conjugated (A11034, Thermo Fisher Scientific, США) и антитела козы к IgG мыши, конъюгированные с Alexa Fluor 555-conjugated (A31570, Thermo Fisher Scientific, США) в течение 1 ч при комнатной температуре. На всех этапах окрашивания для промежуточной отмывки срезов использовали фосфатно-солевой буфер с добавлением 0,1% твина-20 (P9416, Sigma-Aldrich, США). Для удаления автофлуоресценции срезы обрабатывали Autofluorescence Eliminator Reagent (2160, Merck KGaA, Германия) по методике, предложенной производителем. Ядра клеток докрашивали DAPI (10 мкг/мл, D9542, Sigma-Aldrich, США) в течение 30 мин. Готовые препараты заключали под покровное стекло с использованием монтирующей среды ProLong Gold Antifade Mountant (P36930, Thermo Fisher Scientific, США). После высушивания препараты анализировали с помощью конфокального микроскопа LSM700 (Carl Zeiss, Германия).

Для каждого препарата делали снимки 10-ти случайно выбранных полей зрения. Полученные фотографии анализировали с помощью программы ImageJ (Wayne Rasband (NIH), США) и измеряли среднюю интенсивность флуоресцентного сигнала для каждого снимка.

Статистический анализ

Полученные данные обрабатывали в программе GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, США). Характер распределения данных в выборках оценивали по критериям Колмогорова-Смирнова и Шапиро–Уилка. В связи с не нормальностью распределения полученных данных, результаты интерпретировали в виде Me [25%; 75%]. Межгрупповые отличия оценивали с использованием критерия Краскела–

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

Уоллиса с поправкой Данна. Статистически значимыми считали различия при уровне p <0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биохимические показатели

Суперсоксиддисмутаза (СОД) – один из важнейших металлосодержащих ферментов клеточной антиоксидантной системы и неотъемлемый критерий оценки ОС. Митохондриальная изоформа (СОД-2) может охарактеризовать локальную антиоксидантную систему клетки и степень дисфункции митохондрий [22–24]. Концентрация СОД-2 после экспериментального моделирования 240-минутной холодовой кардиоплегии не имела статистически значимых отличий между группами с дополнительной антиокисидантной поддержкой и без таковой.

Малоновый диальдегид (МДА) – еще один параметр ОС, продукт окисления ω-3 и ω-6 жирных кислот, реактивный альдегид, может ковалентно связываться с липидами белками и ДНК, тем самым нарушая их функцию, является мутагеном [25–27]. Максимальное количество МДА на 1 г ткани миокарда обнаружено в контрольной группе без поддержи SkQ1 и достигало 70,9 [58,7; 87,8] мкмоль/г. Минимальная концентрация МДА отмечена в группе «SkQ1 12 нг» 49,4 [41,1; 58,9] мкмоль/г, что было статистически значимо ниже контрольных значений (p=0,02). Сердечный белок, связывающий жирные кислоты (с-БСЖК), находясь в цитоплазме клеток поперечнополосатой мускулатуры, быстро высвобождается в ответ на повреждающее действие, поэтому является чувствительным ранним маркёром ишемического повреждения миокарда [28, 29]. Медиана, отражающая уровень высвобожденного с-БСЖК в миокардиальный отток к концу реперфузии, была ниже в группе «SkQ 12 нг» и достигала 0,8 нг/мл, что более чем на 90% ниже остальных групп исследования, однако, без статистической значимости. Сердечный тропонин – клинический биомаркёр диагностики инфаркта миокарда [30]. Концентрация тропонина-I почти на 50% статистически значимо ниже в группах «SkQ1 12 нг» и «SkQ1 120 нг» в сравнении с контрольной группой (p=0,03; табл. 1).

Дополнительная антиоксидантная поддержка SkQ1 в концентрации 12 нг/мл отразилась в сдерживании развития ОС и снижении высвобождения маркёров повреждения миокарда в условиях 240-минутной холодовой кардиоплегической ишемии с последующей реперфузией.

Гистологическое исследование

Данные гистологического анализа в большей мере согласуются с биохимическими параметрами. Наиболее выраженные структурные изменения миокарда обнаружены в группе контроля и «SkQ1 120 нг», которые коснулись как кардиомиоцитов, так и сосудов, и стромы. Так в срезах контрольного миокарда в интерстиции отметили диффузный отёк (Рис. 2А). Сосуды паретически расширены, запустевшие с набухшим эндотелием. В интрамуральных зонах мышечные волокна истончены, дискомплексированы, волнообразно деформированы и неравномерно окрашены. В субэпикардиальных и субэндокардиальных зонах обширные участки фрагментации мышечных волокон. Цитоплазма кардиомиоцитов гомогенная оксифильная без поперечной исчерченности (Рис. 2Б).

Гистологическая картина при введении в перфузионный раствор SkQ1 120 нг/мл представлена глубокими структурными изменениями, несмотря на установленные биохимические параметры. В миокарде данной группы выявлен резко выраженный отёк (Рис. 2В) преимущественно в периваскулярных пространствах и межмышечных прослойках. Паретическая дилятация сосудов, как и в контроле, с отслойкой эндотелия в некоторых из них. Фрагментация и дискомплексация кардиомиоцитов более выражена в субэпикардиальных и субэндокардиальных зонах. Фрагментация, истощение мышечных волокон сочетались с их волнистостью и полихромазией. В значительной части нарушена целостность сарколеммы. Выявлены группы кардиомиоцитов в состоянии глыбчатого распада и миоцитолиза, а также внутриклеточного отёка. Ядра клеток деформированы, с расплывчатым контуром и диффузным просветлением хроматина, неравномерно увеличены и отёчны. Отмечен очаговый липофусциноз (Рис. 2Г).

Миокард группы «SkQ1 12 нг» имел наименее выраженные и наименее масштабные структурные изменения. Обширные участки компактного расположения кардиомиоцитов чередовались с зонами фрагментации волокон. В интерстиции отмечен умеренный отёк, преимущественно периваскулярный. Ядра кардиомиоцитов хорошо различимы, располагались ближе к центру цитоплазмы, в которой сохранялась поперечная исчерченность. Однако имелись группы клеток с набуханием цитоплазмы и плохо различимыми ядрами с нечёткими контурами (Рис. 2Д и 2Е).

Таким образом, во всех изученных группах выявлены дисциркуляторные, дистрофические и деструктивные изменения миокарда. Однако данные изменения были менее выражены при дополнительной антиоксидантной поддержке изолированных сердец в период аноксии в концентрации SkQ1 12 нг/мл и имели мозаичный характер, сочетаясь с обширными зонами относительно сохранного миокарда.

Сканирующая электронная микроскопия в обратнорассеянных электронах

Снимки образцов с большим увеличением, полученные с применением сканирующей

электронной микроскопии (СЭМ), позволили детализировать внутриклеточные изменения. Без антиоксидантной поддержки SkQ1 отмечали наличие зон со «стёртой» поперечной исчерченностью. В этих зонах митохондрии «слипались» и образовывали электронноплотные структуры, не имеющие четкого разделения на отдельные органеллы. Ядра были сжавшимися, округлой формы без четкой границы, плотно прилегали к электроноплотному содержимому цитоплазмы, хроматин располагался неупорядоченно (Рис. 3А и 3Б). При больших увеличениях наблюдалось нарушение структуры сократительных волокон, не имевших чёткой структуры, вероятно, вследствие лизиса (Рис. 3В). Пространство между клетками было расширено и заполнено волокнистым содержимым.

В группе «SkQ1 120 нг» выявлены расширенные пространства между кардиомиоцитами, в которых наблюдали наличие фрагментов капилляров и клеток (Рис. 3Г). В цитоплазме кардиомиоцитов в областях локализации митохондрий обнаружены вакуолеподобные структуры с прозрачным содержимым (Рис. 3Д). Митохондрии имели разнообразную форму и обладали высокой электронной плотностью, часть из них имела поверхностные выросты. Данные органеллы часто образовывали плотные скопления и соседствовали со свободными пространствами. В некоторых участках митохондрии имели тесный контакт с сократительными волокнами (Рис. 3Е). В данной группе ядра кардиомиоцитов были светлые, вытянутые, ядерная мембрана имела неровности, ядрышки и эухроматин практически отсутствовали (Рис. 3Д).

В группе «SkQ1 12 нг» поперечная исчерченность образцов миокарда была хорошо выражена. Сократительные волокна и кардиомиоциты имели высокую сохранность (Рис. 3Ж–И). Митохондрии с четкими границами, в большинстве случаев располагались в виде слоёв между сократительными волокнами (Рис. 33 и 3И). Ядра кардиомиоцитов были вытянутые, поверхность гладкая. Эухроматин располагался пристеночно, ядрышки в центре ядер. Между наружной поверхностью ядра и сократительными волокнами обычно присутствовали свободные пространства.

Подтверждена и детализирована высокая структурная и внутриклеточная сохранность миокарда при антиоксидантной поддержке SkQ1 в концентрации 12 нг/мл.

Конфокальная микроскопия

Цитохром С – глобулярный белок, ковалентно связанный с группой гема. Выполняет множество важных функций. В митохондриальной цепи переноса электронов действует как электронный носитель от комплекса III к комплексу IV [31]. Цитохром С, высвобождаясь из митохондрии, становится активирующим фактором апоптоза клетки [32]. Распределение и интенсивность свечения цитохрома С в исследуемых образцах тканей отличались в зависимости от концентрации SkQ1. Наиболее выраженное увеличение иммунофлуоресценции было отмечено в обеих группах с антиоксидантной поддержкой, контрольная группа обладала крайне низкой иммунофлуоресценцией. (Рис. 4А–В). Количественный анализ подтвердил визуальные наблюдения: свечение цитохрома С в ткани миокарда группы «SkQ 12 нг» было на 40% статистически значимо выше в сравнении с контролем (p <0,0001; Рис. 4Г). Между опытными группами статистическая разница отсутствовала. Однако стоит отметить, что при антиоксидантной поддержке миокарда SkQ1 в концентрации 12 нг/мл было отмечено наибольшее количество локального увеличения свечения цитохрома С в зонах структурной сохранности ткани. При донации SkQ1 в 120 нг/мл иммунофлуоресценция цитохрома С была относительно равномерной, что может говорить о высвобождении фермента в цитозоль.

Редуктаза цитохрома Р-450 (POR) входит в систему цитохрома Р-450, локализуется в мембране гладкого эндоплазматического ретикулума. Фермент необходим для переноса электронов от NADP к цитохрому Р-450 в микросомах, а также к гемоксигеназе и цитохрому В5 [33]. POR визуально слабо дифференцирована в ткани и не имела статистических различий между группами сравнения (Рис. 4А–Г).

В данной статье мы представили результаты эффективности митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 в зависимости от концентрации на модели изолированного сердца крысы по Лангендорфу. Выбранная модель позволила нам судить непосредственно об эффекте изучаемого антиоксиданта, его кардиотоксичности, исключая влияние гормонов, вегетативной нервной системы и других органов [34]. Этапы перфузирования сердца были построены с целью моделирования клинического состояния сердца при операциях в условиях ИК или условиях, близких к трансплантации. Ранее нами уже были проведены подобные исследования [35].

Мы обнаружили, что меньшая из рассматриваемых концентраций SkQ1 (12 нг/мл) способствовала наибольшей сохранности миокарда на тканевом и клеточном уровнях. При помощи гистологического исследования и СЭМ выявлены обширные зоны с недеформированными мышечными волокнами, неповреждёнными сарколеммой и органеллами кардиомиоцитов. Эти данные полностью соответствовали низким уровням маркёров ОС и повреждения миокарда. Данная концентрация способствовала вероятному

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

связыванию SkQ1 с кардиолипином и снижению пероксидазной активности цитохрома С, которое соответственно привело к снижению развития ОС в митохондриях, к их структурной сохранности, что в итоге не позволило цитохрому С выйти в цитозоль [36]. Л.Е. Бакеева с соавт. провели *ex vivo* и *in vivo* исследования по изучению дозозависимого эффекта SkQ1 на крысах линии Wistar и также пришли к выводам, что очень низкие концентрации SkQ1 могут оказать выраженный антиоксидантный эффект при ОС [37]. В 2021 году M. Hamed и соавт. опубликовали результаты исследования безопасности и эффективности MitoQ (соединение с убехиноном, один из аналогов SkQ, которое было разработано в Новой Зеландии) на модели ишемии и реперфузии почки в зависимости от концентрации от 50 до 250 мкмоль/л. В итоге, наименьшая изучаемая концентрация (50 нмоль/л) оказала выраженный антиоксидантный эффект, который привел к повышению общего кровотока и диуреза в почках свиней и человека [38].

В собственных экспериментах при повышении концентрации SkQ1 в 10 раз (120 нг/мл) было спровоцировано усугубление ОС при моделировании ишемических и реперфузионных повреждений изолированного сердца. Наблюдали обширные зоны с деформированными и разобщёнными мышечными волокнами, отёком, глыбчатым распадом – признаке острого некроза ткани, с относительно высокими уровнями маркеров ОС и повреждения миокарда и одновременно «сплошной» внутриклеточной иммунофлуоресценцией цитохрома С, сигнализирующей о нарушении структуры и функции митохондрий и возможном запуска апоптоза. Авторы пришли к выводу, что перфузия изолированного сердца в течение 10 мин («SkQ1 120 нг/мл») до периода глобальной ишемии оказывала выраженный кардиотоксичный эффект, в связи с чем можно предположить, что концентрация митохондриально-направленного антиоксиданта играет важную роль в коррекции ОС.

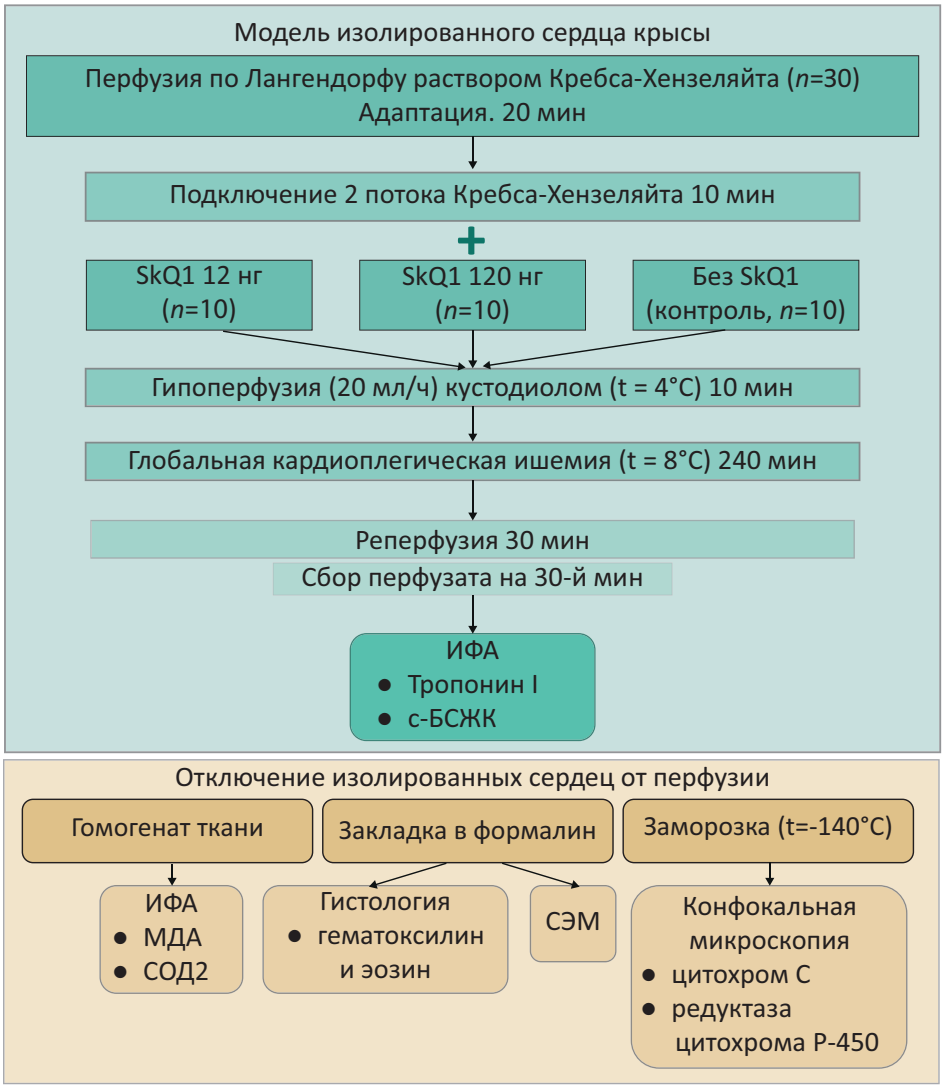

Рисунок 1 – Блок-схема дизайна исследования

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Научно-практический журнал
ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ
(PHARMACY & PHARMACOLOGY)

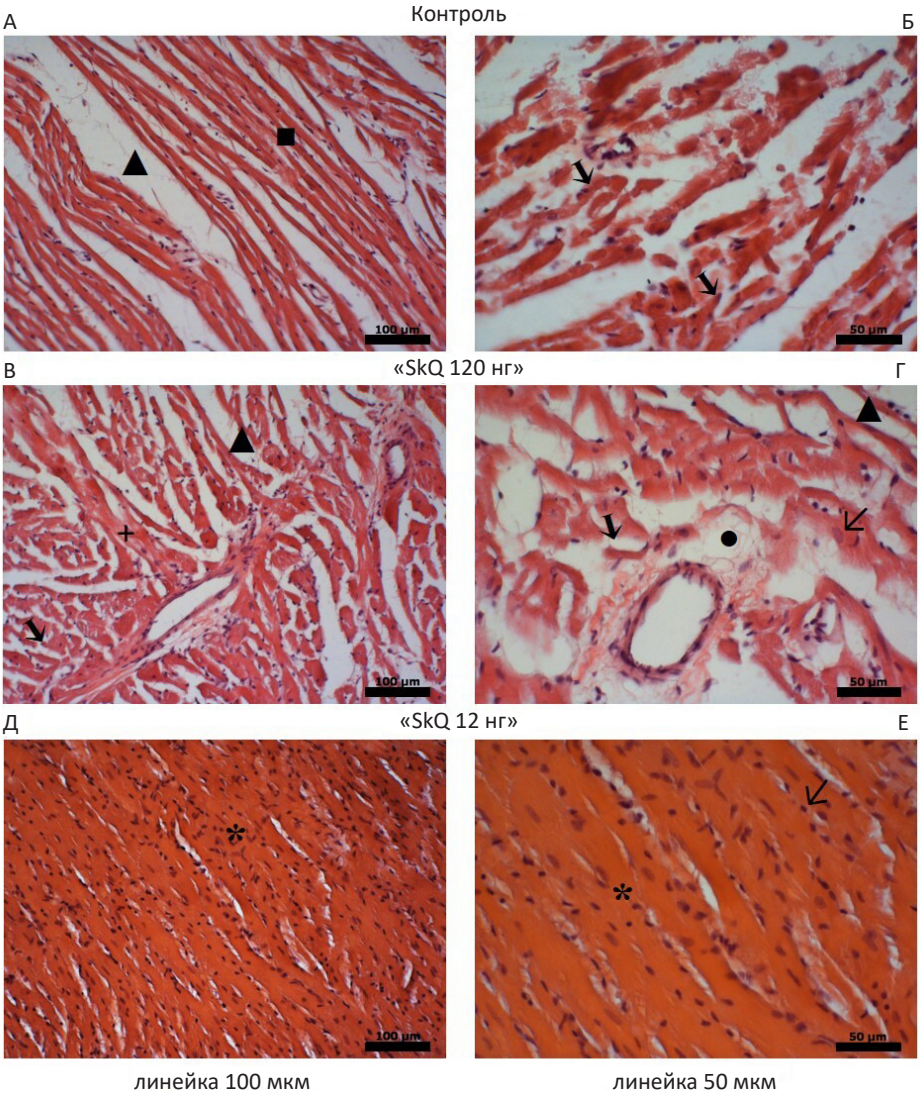

Рисунок 2 – Гистологическая окраска срезов миокарда гематоксилин-эозином.

Примечание: А – диффузный интерстициальный отёк (▲), растяжение и истончение мышечных волокон (■), ув. ×20; Б («SkQ1 120 нг») – фрагментация мышечных волокон, дискомплексация кардиомиоцитов (↓), оксифилия цитоплазмы кардиомиоцитов, ув. ×40; В – разобщение, фрагментация (↓) и полихромазия мышечных волокон, интерстициальный отёк (▲), миоцитолиз и внутриклеточный отёк кардиомиоцитов (+), ув. ×20; Г («SkQ1 12 нг») – фрагментация мышечных волокон (↓), периваскулярный (●) и интерстициальный отёк (▲), набухание ядер кардиомиоцитов (↓), ув. ×20; Д – компактное расположение мышечных волокон (*), ув. ×20; Е – компактное расположение мышечных волокон (*), хорошо различимые ядра кардиомиоцитов (↓), сохранение сарколеммы, ув. ×40.

Таблица 1 – Параметры окислительного стресса и повреждения миокарда

Группы	Исследуемые параметры, Me [25%; 75%]			
	СОД-2, нг/мл	МДА, мкмоль/г	Тропонин-I, пг/мл	с-БСЖК, нг/мл
Контроль	13,0 [8,3; 18,3]	70,9 [58,7; 87,8]	47,7 [29,3; 54,2]	9,0 [2,1; 17,6]
SkQ1 120 нг	14,4 [11,6; 20,4]	63,8 [62,5; 83,0]	24,2 [23,5; 25,9]*	12,8 [4,1; 15,3]
SkQ1 12 нг	16,0 [8,4; 17,9]	49,5 [41,1; 58,9]*	22,3 [20,3; 23,9]*	0,8 [0,6; 6,0]

Примечание: * p <0,05 при сравнении со значениями группы контроля; СОД – супероксиддисмутаза; МДА – малоновый диальдегид; БСЖК – белок, связывающий жирные кислоты.

RESEARCH ARTICLE
DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-3-219-230

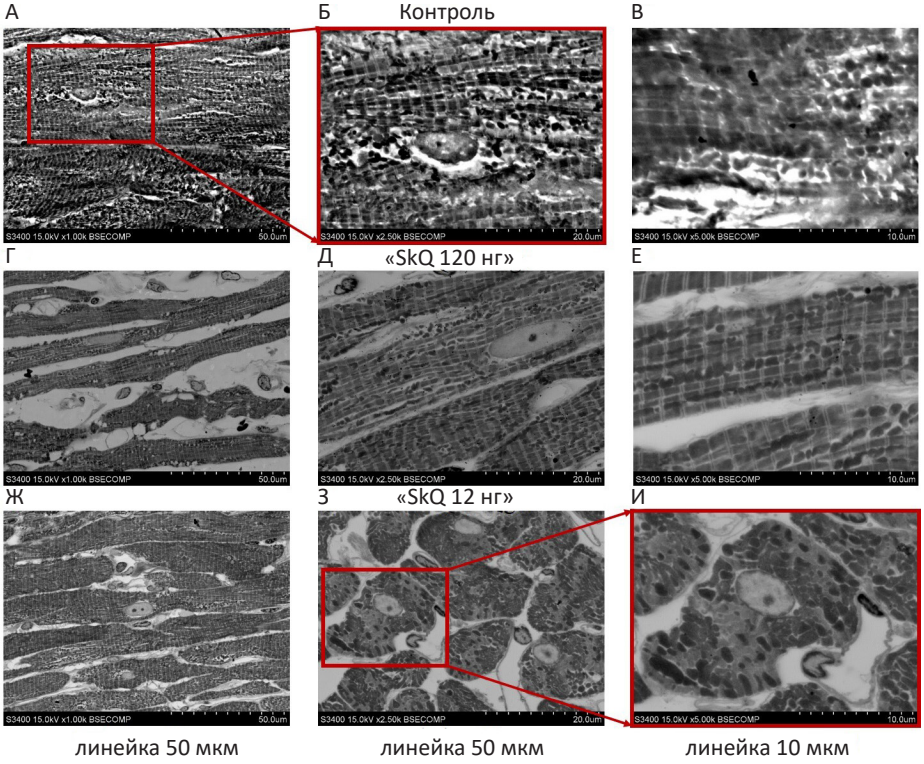

Рисунок 3 – Сканирующая электронная микроскопия миокарда

Примечание: А – волнообразная деформация, зоны «стёртой исчерченности», ув. ×1000; Б – сжавшееся ядро, ув. ×2500; В («SkQ1 120 нг») – «стёртая» исчерченность, нарушение структуры сократительных волокон, ув. ×5000; Г – разобщение кардиомиоцитов, ув. ×1000; Д – вакуолеподобные пространства вокруг митохондрий, ув. ×2500; Е («SkQ1 12 нг») – скопления митохондрий, ув. ×5000; Ж – сохранность исчерченности кардиомиоцитов, ув. ×1000; З, И – слои митохондрий вокруг мышечных волокон, вытянутые ядра, ув. ×2500 и ×5000.

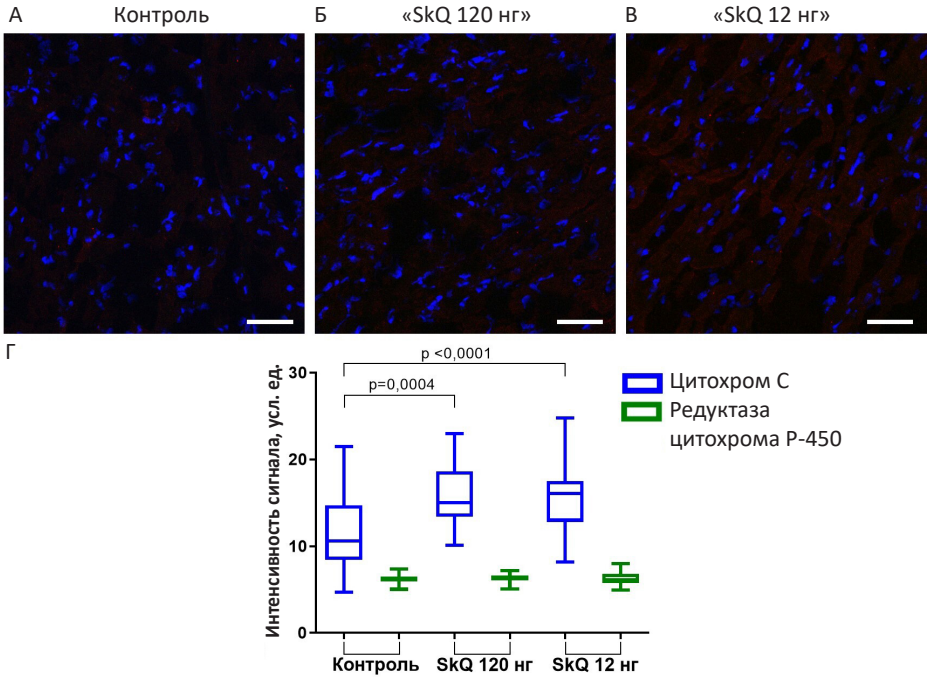

Рисунок 4 – Иммунофлуоресцентное окрашивание срезов ткани миокарда

Примечание: А – контроль, слабое свечение иммунофлуоресцентых меток; Б – «SkQ1 120 нг», наличие дифференцированного свечения цитохрома С; В – «SkQ1 12 нг», наличие хорошо дифференцированного и зонального свечения цитохрома С; Г – количественный анализ цитохрома С и редуктазы цитохрома Р-450. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха, максимальным и минимальным значениями. Линейка 50 мкм, цитохром С – красный, редуктаза цитохрома Р-450 – зеленый, клеточное ядро – синий.

Ограничения исследования

На полученные результаты мог повлиять небольшой размер выборки наблюдений, равный 10 сердцам в каждой группе исследования. Также стоит отметить, что при всём преимуществе и простоте модели изолированного сердца, отсечение системного влияния также могло выступить в роли ограничения по регуляции деятельности сердечной мышцы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Митохондриально-направленный антиоксидант SkQ1 в концентрации 12 нг/мл оказал выраженный антиоксидантный и кардиопротективный эффекты на модели ишемии и реперфузии изолированного сердца крысы, отражённый в высокой степени сохранности сократительного аппарата миокарда и органелл. Тогда как концентрация 120 нг/мл, наоборот, усугубила ОС и привела к деструктивным повреждениям ткани. Данный антиоксидант крайне перспективен в области создания кардиопротективных препаратов для кардиохирургии и трансплантации, в связи с чем требуется проведение дальнейших исследований.

SkQ1 в концентрации 12 нг/мл проявил выраженные антиоксидантные свойства в отношении ишемизированного миокарда, что позволило получить более высокую степень сохранности сердечной мышцы в сравнении с применением SkQ1 в концентрация 120 нг/мл, которая усугубила окислительный стресс и структурные изменения ткани.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов благодарит кандидата биологических наук М.В. Скулачева, ведущего научного сотрудника Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского (ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова») за предоставление пластомитина и консультацию по постановке эксперимента.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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 персонифицированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и тканеинженерных имплантатов».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.А. Сенокосова, Е.В. Григорьев – разработка концепции и дизайна исследования; Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров, О.Д. Сидорова, Е.О., Кривкина Л.В. Антонова – проведение исследований, обработка и анализ результатов; Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова – статистическая обработка полученных результатов; Е.А. Сенокосова, Е.А. Великанова, Р.А. Мухамадияров – написание текста рукописи; Л.В. Антонова, Е.В. Григорьев – редактирование текста рукописи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Soeur J., Eilstein J., Lereaux G., Jones C., Marrot L. Skin resistance to oxidative stress induced by resveratrol: from Nrf2 activation to GSH biosynthesis // Free Radic. Biol. Med. – 2015. – Vol. 78. – P. 213–223. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed
2. Cadenas E., Davies K.J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging // Free Radic Biol Med. – 2000. – Vol. 29, No. 3–4. – P. 222–230. DOI: 10.1016/s0891-5849(00)00317-8
3. Pisoschi A.M., Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review // Eur J Med Chem. – 2015. – Vol. 5, No. 97. – P. 55–74. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040
4. He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species // Cell Physiol Biochem. – 2017. – Vol. 44, No. 2. – P. 532–553. DOI: 10.1159/000485089
5. Zerres S., Stahl W. Carotenoids in human skin // Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids. – 2020. – Vol. 1865, No. 11. – P. 158588. DOI: 10.1016/j.bbalip.2019.158588
6. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance // Plant Sci. – 2012. – Vol. 196. – P. 67–76. DOI: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014
7. Grabowska M., Wawrzyniak D., Rolle K., Chomczynski P., Oziewicz S., Jurga S., Barciszewski J. Let food be your medicine: nutraceutical properties of lycopene // Food Funct. – 2019. – Vol. 10, No. 6. – P. 3090–3102. DOI: 10.1039/c9fo00580c
8. Bhat I., Mamatha B.S. Genetic factors involved in modulating lutein bioavailability // Nutr Res. – 2021. – Vol. 91. – P. 36–43. DOI: 10.1016/j.nutres.2021.04.007

9. Berger M.M. Can oxidative damage be treated nutritionally? // Clin Nutr. – 2005. – Vol. 24, No. 2. – P. 172–183. DOI: 10.1016/j.clnu.2004.10.003
10. Lopez-Alarcon C., Denicola A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays // Anal Chim Acta. – 2013. – Vol. 6, No. 763. – P. 1–10. DOI: 10.1016/j.aca.2012.11.051
11. Kattoor A.J., Pothineni N.V.K, Palagiri D., Mehta J.L. Oxidative Stress in Atherosclerosis // Curr Atheroscler Rep. – 2017. – Vol. 19, No. 11. – P. 42. DOI: 10.1007/s11883-017-0678-6
12. Betteridge D.J. What is oxidative stress? // Metabolism. – 2000. – Vol. 49. – P. 3–8. DOI: 10.1016/s0026-0495(00)80077-3
13. Senoner T., Dichtl W. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Still a Therapeutic Target? // Nutrients. – 2019. – Vol. 11, No. 9. – P. 2090. DOI: 10.3390/nu11092090
14. Богданов М.В., Воронцова Н.Л., Матвеева В.Г., Головкин А.С., Ларионов М.В., Григорьев Е.В. Динамика показателей окислительного стресса и эндогенной интоксикации в венечном синусе и периферической крови у пациентов с ИБС во время аортокоронарного шунтирования // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2013. – № 4. – С. 65–70. DOI: 10.17802/2306-1278-2013-4-65-70
15. Kura B., Szeiffova Bacova B., Kalocayova B., Sykora M., Slezak J. Oxidative Stress-Responsive MicroRNAs in Heart Injury // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21, No. 1. – P. 358. DOI: 10.3390/ijms21010358
16. 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. – Vol. 39, No. 12. – P. 1408–1416. DOI: 10.1016/j.healun.2020.08.021
17. Liberman E.A., Topaly V.P., Tsofina L.M., Jasaitis A.A., Skulachev V.P. Mechanism of coupling of oxidative phosphorylation and the membrane potential of mitochondria // Nature. – 1969. – Vol. 222, No. 5198. – P. 1076–1078. DOI: 10.1038/2221076a0
18. Skulachev V.P. Cationic antioxidants as a powerful tool against mitochondrial oxidative stress // Biochem Biophys Res Commun. – 2013. – Vol. 441, No. 2. – P. 275–279. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.10.063
19. 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., Zamyatnin A.A. Jr., Zorov D.B., Skulachev V.P. Mitochondrial-targeted plastoquinone derivatives. Effect on senescence and acute age-related pathologies // Curr Drug Targets. – 2011. – Vol. 12, No. 6. – P. 800–826. DOI: 10.2174/138945011795528859
20. Antonenko Y.N., Roginsky V.A., Pashkovskaya A.A., Rokitskaya T.I., Kotova E.A., Zaspa 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. – Vol. 222, No. 3. – P. 141–149. DOI: 10.1007/s00232-008-9108-6
21. Anisimov V.N., Egorov M.V., Krasilshchikova M.S., Lyamzaev K.G., Manskikh 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.Y., Yurova M.N., Zabezhinsky M.A., Skulachev V.P. Effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents // Aging (Albany NY). – 2011. – Vol. 3, No. 11. – P 1110–1119. DOI: 10.18632/aging.100404
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. – Vol. 24, No. 6. – P. 1175–1185. DOI: 10.1007/s12192-019-01039-2
23. Bayrak S., Aktaş S., Altun Z., Çakir Y., Tütüncü M., Kum Özşengezer S., Yilmaz O., Olgun N. Antioxidant effect of acetyl-l-carnitine against cisplatin-induced cardiotoxicity // J Int Med Res. – 2020. – Vol. 48, No. 8. – P. 300060520951393. DOI: 10.1177/0300060520951393
24. Förstermann U., Xia N., Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis // Circ Res. – 2017. – Vol. 120, No. 4. – P. 713–735. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309326
25. Esterbauer H., Eckl P., Ortner A. Possible mutagens derived from lipids and lipid precursors // Mutat Res. – 1990. – Vol. 238, No. 3. – P. 223–233. DOI: 10.1016/0165-1110(90)90014-3
26. Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes // Free Radic Biol Med. – 1991. – Vol. 11, No. 1. – P. 81–128. DOI: 10.1016/0891-5849(91)90192-6
27. Weismann D., Binder C.J. The innate immune response to products of phospholipid peroxidation // Biochim Biophys Acta. – 2012. – Vol. 1818, No. 10. – P. 2465–2475. DOI: 10.1016/j.bbamem.2012.01.018
28. Liebetrau C., Nef H.M., Dörr O., Gaede L., Hoffmann J., Hahnel A., Rolf A., Troidl C., Lackner K.J., Keller T., Hamm C.W., Möllmann H. Release kinetics of early ischaemic biomarkers in a clinical model of acute myocardial infarction // Heart. – 2014. – Vol. 100. – P. 652–657. DOI: 10.1136/heartjnl-2013-305253
29. Vupputuri A., Sekhar S., Krishnan S., Venugopal K., Natarajan K.U. Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) as an early diagnostic biomarker in patients with acute chest pain // Indian Heart J. – 2015. – Vol. 67, No. 6. – P. 538–542. DOI: 10.1016/j.ihj.2015.06.035
30. Collet J.P., Thiele H., Barbato E., Barthelemy O., Bauersachs J., Bhatt D.L., Dendale P., Dorobantu M., Edvardsen T., Folliguet T., Gale C.P., Gilard M., Jobs A., Juni P., Lambrinou E., Lewis B.S., Mehilli J., Meliga E., Merkely B., Mueller C., Roffi M., Rutten F.H., Sibbing D., Siontis G.C.M.; ESC Scientific Document Group. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation // Eur Heart J. – 2021. – Vol. 42, No. 14. – P. 1289–1367. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa575
31. Li K., Li Y., Shelton J.M., Richardson J.A., Spencer E., Chen Z.J., Wang X., Williams R.S. Cytochrome c deficiency causes embryonic lethality and attenuates stress-induced apoptosis // Cell. – 2000. – Vol. 101, No. 4. – P. 389–399. DOI: 10.1016/s0092-8674, No. 00)80849-1
32. Kulikov A.V., Shilov E.S., Mufazalov I.A., Gogvadze V., Nedospasov S.A., Zhivotovsky B. Cytochrome C: the Achilles' heel in apoptosis // Cell Mol Life Sci. – 2012. – Vol. 69, No. 11. – P. 1787–1797. DOI: 10.1007/s00018-011-0895-z

33. Strobel H.W., Dignam J.D., Gum J.R. NADPH cytochrome P-450 reductase and its role in the mixed function oxidase reaction // Pharmacol Ther. – 1980. – Vol. 8, No. 3. – P. 525–537. DOI: 10.1016/0163-7258(80)90075-3

34. Olejnickova V., Novakova M., Provaznik I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances // Med Biol Eng Comput. – 2015. – Vol. 53, No. 7. – P. 669–678. DOI: 10.1007/s11517-015-1270-2

35. Senokosova E.A., Krutitskiy S.S., Velikanova E.A., Tsepokina A.V., Kuzmina A.A., Tretjak V.M., Denisova S.V., Gruzdeva O.V., Antonova L.V., Grigoriev E.V. Ability of N(2)-L-alanyl-L-glutamine to restore the function of ischemic myocard // Complex Issues of Cardiovascular Diseases. – 2017. – No. 1. – P. 44–50. DOI: 10.17802/2306-1278-2017-1-44-50

36. Firsov A.M., Kotova E.A., Orlov V.N., Antonenko Y.N., Skulachev V.P. A mitochondria-targeted antioxidant can inhibit peroxidase activity of cytochrome c by detachment of the protein from liposomes // FEBS Lett. – 2016. – Vol. 590, No. 17. – P. 2836–2843. DOI: 10.1002/1873-3468.12319

37. 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., Vasilyeva 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. – Vol. 73, No. 12. – P. 1288–1299. DOI: 10.1134/s000629790812002x

38. Hamed M., Logan A., Gruszczyk 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. – Vol. 108, No. 9. – P. 1072–1081. DOI: 10.1093/bjs/znab108

АВТОРЫ

Сенокосова Евгения Андреевна – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией клеточных технологий ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-9430-937X. E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

Великанова Елена Анатольевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-1079-1956. E-mail: veliea@kemcardio.ru

Мухамадияров Ринат Авхадиевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-5558-3229. E-mail: muhara@kemcardio.ru

Сидорова Ольга Дмитриевна – кандидат медицинских наук, преподаватель, доцент ГБПОУ «КМК». ORCID ID: 0000-0003-2731-6294. E-mail: sod-0204@yandex.ru

Кривкина Евгения Олеговна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-2500-2147. E-mail: kriveo@kemcardio.ru

Антонова Лариса Валерьевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ НИИ КПССЗ. ORCID ID: 0000-0002-8874-0788. E-mail: antolv@kemcardio.ru

Григорьев Евгений Валерьевич – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной и лечебной работе ФГБНУ НИИ КПССЗ; профессор РАН. ORCID ID: 0000-0001-8370-3083. E-mail: grigev@kemcardio.ru