

*На правах рукописи*

**КУРОПАТКИНА ТАТЬЯНА АНАТОЛЬЕВНА**

**ЭФФЕКТЫ СОЛЮБИЛИЗИРОВАННОГО УБИХИНОЛА И СЕЛЕНА НА РАЗВИТИЕ  
МОНОКРОТАЛИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У  
КРЫС. ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

1.5.5. Физиология человека и животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова»)

**Научные руководители:**

Доктор медицинских наук, профессор  
Доктор биологических наук, профессор

**Медведев Олег Стефанович**  
**Медведева Наталия Александровна**

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук,  
профессор, член-корреспондент РАН,  
ФГАОУ ВО «Российский национальный  
исследовательский медицинский  
университет имени Н.И. Пирогова»,  
кафедра молекулярной  
фармакологии и радиобиологии  
имени академика П.В. Сергеева,  
заведующий кафедрой

**Шимановский Николай Львович**

Доктор биологических наук, доцент,  
ФГБНУ «Научно-исследовательский  
институт общей патологии и патофизиологии»,  
лаборатория общей патологии кардио-  
респираторной системы, главный научный  
сотрудник, и.о. заведующего лабораторией

**Тараканов Игорь Анатольевич**

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 года в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 24.1.183.01, созданного на базе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» по адресу: 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ученой части ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» по адресу: 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8 и на сайте [www.academpharm.ru](http://www.academpharm.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Вальдман Елена Артуровна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность диссертационного исследования.** Считается, что возникновение многих сердечно-сосудистых заболеваний напрямую связано с недостатком коэнзима Q10 (CoQ10) – важного переносчика электронов в дыхательной цепи митохондрий (Hernández-Camacho J.D. et al. *Front Physiol.* 2018; 3; P. 44). Снижение концентрации CoQ10 происходит вследствие нарушений его синтеза, естественного старения клеток, неправильной диеты, употребления препаратов группы статинов и др. (Hernández-Camacho J.D. et al. *Front Physiol.* 2018; 3; P. 44, Hargreaves I. et al. *Int J Mol Sci.* 2020; 21; 18; P. 6695, Mantle D. et al. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9; P. 386). Убихинол (восстановленная форма CoQ10) является более активной молекулой и обладает большим окислительно-восстановительным потенциалом (Maroz A. et al. *Free Radical Bio Med.* 2009; 46; 1; P. 105–109).

Одним из семейств первой линии антиперекисной защиты являются глутатион-пероксидазы и некоторые другие ферменты, содержащие селен. Эффективность таких ферментов напрямую зависит от обеспеченности организма селеном (Oliveira-Silva J.A. et al. *Genet Mol Biol.* 2019; 42; 1; P. 1–8). Недостаточность селена и селенопротеинов в организме ассоциируется с рядом кардиологических состояний, таких как эндемическая кардиомиопатия Кешана, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда и реперфузионная травма и некоторые другие (Куропаткина Т.А. и др. *Кардиология.* 2021; 3; 61; С. 96–104).

Таким образом, убихинол и селен обладающие схожими функциями, вероятно, могут дополнять эффекты друг друга при профилактике и лечении патологий сердца, сопряженных с оксидативным стрессом. Патогенез выбранной модели, монокроталин-индуцированной легочной гипертензии, включает в себя такие звенья как оксидативный стресс и воспаление, которые служат мишенями для действия изучаемых веществ. Несмотря на наличие убедительных данных о благоприятных терапевтических эффектах CoQ10, он обладает низкой биодоступностью при пероральном применении. В диссертационной работе исследована новая солюбилизованная лекарственная форма CoQ10, которая может быть введена внутривенно.

Легочная гипертензия (ЛГ) – патологическое состояние, характеризующееся повышением артериального давления в малом круге кровообращения выше 25 мм рт. ст. у людей и выше 40 мм рт. ст. у крыс и гипертрофией правого желудочка сердца (Gomez-Arroyo J.G. et al. *Am J Physiol-lung C.* 2012; 302; 10; P. L977–L991, Wilcox S.R. et al. *Ann Emerg Med.* 2015; 66; 6; P. 619–628). Природа возникновения легочной гипертензии мультифакторна, однако, одной из ведущих причин считается нарушение функции эндотелия вследствие

повреждающего действия свободных радикалов и последующее изменение реактивности гладких мышц сосудов к вазоактивным факторам (Lan N.S.H. et al. Dis. 2018; 6; 2; P. 38).

Несмотря на то, что вклад CoQ10 и селена при легочной гипертензии изучен недостаточно, существуют примеры их успешного применения при других сердечно-сосудистых заболеваниях (Moghaddam A.K.Z. et al. Biol Trace Elem Res. 2017; 180; 1; P. 164–170, Sharp J. et al. Redox Biol. 2014; 2; P. 884–891), в связи с чем, исследование действия комбинации убихинола в новой лекарственной форме для внутривенного введения и селена на такой экспериментальной модели, в основе которой лежит оксидативный стресс и воспаление, представляет большой интерес.

**Степень разработанности проблемы.** На кафедре фармакологии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова много лет проводятся исследования солюбилизованного CoQ10 при различных патологических состояниях. Изучена фармакокинетика CoQ10 в составе препарата Кудесан® после введения препарата крысам в дозе 30 мг/кг (Харитоновна Е.В. и др. Сибирское медицинское обозрение; 2013; 6; 84; С. 26–29), а также используемого в данной диссертационной работе солюбилизованного препарата 1% убихинола в дозах 5, 10, 20 и 30 мг/кг (Каленикова Е.И. и др. Хим.-фарм. журн. 2018; 52; P. 12–15, Каленикова Е.И. и др. Хим.-фарм. журн. 2017; 11; 51; P. 3–7, Каталанова А.В. и др. Биомед. химия. 2018; 64; P. 188–194). Убедительные результаты получены на моделях ишемического инсульта (Obolenskaia O. et al. Antioxidants. 2020; 9; 12; P. 1240) и инфаркта миокарда (Каленикова Е.И. и др. Эксп. клин. фармакол. 2015; 78; 6; С. 12-14) у крыс, подтверждены вазоактивные свойства препарата в экспериментах *in vitro* (Kozueva L. et al. Eur J Pharmacol. 2017; 794; P. 15–19). При этом исследования нового препарата солюбилизованного убихинола совместно с другими фармацевтическими агентами, которые могли бы потенцировать его эффекты, не проводилось. Кроме того, все исследования были выполнены на самцах, без учета влияния пола.

**Цель диссертационного исследования:** изучить влияние препарата 1% солюбилизованного убихинола и его комбинации с селеном на степень развития легочной гипертензии, индуцированной монокроталином (МКТ-ЛГ) у самцов и самок крыс Wistar.

**Задачи исследования.**

1. Изучить эффекты препарата убихинола, вводимого внутривенно в дозе 30 мг/кг и его комбинации с селеном, на признаки развития МКТ-ЛГ: величину систолического давления в правом желудочке сердца и его гипертрофию у самцов и самок крыс стока Wistar.

2. Оценить состояние эндотелия легочных сосудов путем анализа изменений реактивности изолированных перфузируемых легочных сосудов в ответ на сосудосуживающие и сосудорасширяющие факторы у животных обоих полов с легочной гипертензией на фоне действия препарата убихинола и его комбинации с селеном.
3. Оценить состояние легких у животных с МКТ-ЛГ на фоне действия препарата убихинола и его комбинации с селеном методом магнитно-резонансной томографии (МРТ).
4. Провести анализ возможных механизмов наблюдаемых эффектов.
5. Выявить возможные половые различия в эффектах исследуемых препаратов.

**Научная новизна.** В работе впервые показаны как индивидуальные, так и сочетанные эффекты комбинации солубилизованного убихинола при внутривенном введении и селена на развитие МКТ-ЛГ различной степени тяжести. При среднетяжелом течении МКТ-ЛГ выявлено протективное влияние убихинола на массу правого желудочка сердца, а также массу легких и их структуру у животных обоих полов.

При более тяжелой степени течения МКТ-ЛГ у самцов протективное влияние убихинола сохраняется только в отношении предотвращения увеличения массы легких. Кроме того, препарат убихинола нивелирует пол-зависимое изменение реактивности изолированных легочных сосудов к вазоактивным факторам на фоне ЛГ разной степени тяжести. Впервые на 4х-недельной модели МКТ-ЛГ подтверждено противовоспалительное действие убихинола – показан достоверно меньший уровень экспрессии провоспалительного маркера микроРНК-34а в ткани правого желудочка сердца (ПЖ).

Подтверждено, что селен, вводимый внутривенно ежедневно начиная с 7 дня эксперимента, не влияет на основные параметры легочной гипертензии как у самцов, так и у самок.

Впервые установлено, что комбинация убихинола и селена препятствует увеличению систолического давления в правом желудочке сердца у самцов. При этом сочетание веществ достоверно снижает массу легких только у самцов, нивелируя действие одного перорально вводимого селена, который усугубляет структурные изменения в легких.

**Теоретическая и научно-практическая значимость.** Выявленный протективный эффект применения убихинола и его комбинации с селеном на животных с МКТ-ЛГ может иметь значение для клинических рекомендаций по лечению больных с легочной гипертензией средней степени тяжести, а также для профилактики ее возникновения. Теоретическая важность полученных данных состоит в расширении понимания механизмов действия убихинола, проявляющихся в восстановлении функции эндотелия, как одного из факторов патогенеза легочной гипертензии.

**Методология и дизайн исследования.** В представленной работе применялись физиологические, физико-химические, биохимические, гематологические и томографические методы исследования. Дизайн исследования согласован с принципами проведения экспериментов на лабораторных животных и аналитических исследований. Работа основывалась с соблюдением биоэтических принципов. Все манипуляции были проведены согласно с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации №199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», а также директивы 86/609/ЕЕС. Теоретической и методологической основой исследования послужили фундаментальные и прикладные исследования отечественных и зарубежных ученых по данной тематике, публикации в периодических изданиях, методические рекомендации.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Препарат убихинола, вводимый внутривенно в дозе 30 мг/кг, оказывает протективное влияние на степень гипертрофии правого желудочка сердца самцов и самок крыс с монокроталин-индуцированной легочной гипертензии.
2. Препарат солюбилизованного убихинола в дозе 30 мг/кг при внутривенном введении предотвращает развитие существенных фиброзных изменений и увеличение массы легких при монокроталин-индуцированной легочной гипертензии средней и тяжелой степени тяжести у самцов и самок крыс.
3. Препарат солюбилизованного убихинола в дозе 30 мг/кг при внутривенном введении на фоне развития монокроталин-индуцированной легочной гипертензии, вероятно, за счет своих противовоспалительных свойств, пол-зависимо восстанавливает эндотелий-зависимое расширение сосудов у самцов, что может быть одним из механизмов его протективного действия.
4. Селен в дозе 10 мкг/кг, вводимый внутрижелудочно, не оказывает значимых положительных эффектов на развитие монокроталин-индуцированной легочной гипертензии средней тяжести ни у самцов, ни у самок, однако, его применение в сочетании с препаратом убихинола предотвращает увеличение систолического давления в правом желудочке сердца у самцов, что не наблюдается при действии одного убихинола.

**Степень достоверности данных.** Достоверность представленных в работе результатов подтверждена результатами статистической обработки данных. Применялись современные экспериментальные методы статистически рассчитанной величиной выборок объектов эксперимента и их однородностью, использовались адекватные методы статистической обработки. При подготовке обзора литературы и обсуждения результатов использованы актуальные литературные источники.

**Апробация результатов исследования.** Данные были представлены на заседании кафедры фармакологии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова. Результаты научно-исследовательской работы были изложены на IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2019), XV Всероссийском конгрессе "Артериальная гипертензия – 2019" (Москва, 2019), VI Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Судак, 2019), международном конгрессе Heart Failure 2019 и World Congress on Acute Heart Failure (Афины, 2019), международном конгрессе Heart Failure 2021 (Барселона, 2021).

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 10 работ, включая 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, и 6 тезисов в материалах российских и международных конгрессов и конференций.

**Личный вклад автора.** Автор непосредственно принимала участие в анализе литературных источников по теме диссертационной работы, в разработке гипотезы, планировала и проводила эксперименты, анализировала полученные результаты, участвовала в написании и публикации статей и тезисов докладов. Вклад диссертанта является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования, от экспериментально-теоретической реализации поставленных задач до обсуждения результатов и написания научных публикаций.

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертационная работа изложена на 111 страницах машинописного текста, где представлены введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, список литературы и благодарности. Диссертационная работа также включает 19 таблиц, 26 рисунков. Список используемой литературы содержит 215 источника, из них 195 на иностранном языке.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Ввиду существования полового диморфизма в патогенезе легочной гипертензии работа была разделена на два основных блока: эксперименты на самцах и на самках. Для решения поставленных задач было проведено 4 самостоятельных эксперимента, длительность трех из которых составляла 3 недели, и один проводился в течение 4 недель от момента инъекции монокроталина до фазы острых физиологических экспериментов. Все эксперименты имели одинаковую структуру. В каждом блоке были изучены гендерные

особенности течения патологии, а также индивидуальные и совокупные эффекты изучаемых веществ.

**Исследуемые препараты.** 1. Убихинол, раствор для внутривенного введения 10 мг/мл (1% водный раствор солюбилизированной субстанции убихинола) и его растворитель были любезно предоставлены профессором Макаровой М.Н. (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», г. Санкт-Петербург). 2. Селен, таблетки 100 мг (Solgar, США) (L-селенометионин – 100 мкг).

В экспериментах использовали самцов и самок крыс стока Wistar (вес 180–230 г), полученных из вивария НИИ общей патологии и патофизиологии (г. Москва, Россия). Крысы содержались в стандартных условиях вивария.

В первую неделю дважды и далее раз в неделю до конца эксперимента животных взвешивали и измеряли систолическое давление плетизмографическим методом с хвоста, у самок дополнительно ежедневно устанавливали фазу цикла путем исследования влагиалищного мазка во избежание возможного протективного влияния эстрадиола в момент инъекции монокроталина.

В первый день эксперимента всем животным однократно подкожно вводили либо растворитель для монокроталина (МКТ) (Sigma Aldrich, Германия) (0,9 мл/ 300 г массы тела спирта этилового 60%) (группа Контроль), либо раствор МКТ (60 мг/кг в таком же объеме). На 7-ой день условно-здоровым контрольным животным вводили растворитель для субстанции убихинола. Животным, получившим в первый день МКТ вводили: либо *растворитель* для субстанции убихинола (**МКТ-Растворитель**), либо *препарат 1% раствора убихинола 30 мг/кг в/в* (**МКТ-Убихинол**), либо *селен 10 мкг/кг* внутрь, ежедневно (**МКТ-Se**), либо *комбинацию 1% препарата убихинола и селена* (**МКТ-Se-Убихинол**). Растворитель и убихинол вводили в хвостовую вену. Повторно внутривенное введение проводили на 14 день (и 21 день в 4х-недельном эксперименте).

Выбор используемой дозы убихинола осуществляли на основании предыдущего опыта изучения препаратов CoQ10 на кафедре фармакологии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова (Каленикова Е.И. и др. Эксп. клин. фармакол. 2015; 78; 6; С. 12-14, Каталанова А.В. и др. Биомедицинская химия. 2018; 64; Р. 188–194, Obolenskaia O. et al. Antioxidants. 2020; 9; 12; Р. 1240). Для селена была выбрана доза 10 мкг/кг. на основании литературных источников (Hadrup N. et al. PeerJ. 2016; 4; Р. e2601, Urbankova L. et al. Toxics. 2021; 9; 2; Р. 28).

В последнем эксперименте у самок проводили МРТ-исследование легких на 20 день эксперимента. Для этого крысы были анестезированы 12% раствором хлоралгидрата из расчета 300 мг хлоралгидрата на 1 кг веса животного (внутрибрюшинно), после чего крыс

интубировали с помощью интубационной системы с подсветкой BioLITE (BRAINTREE SCIENTIFIC). Сканирование было выполнено с помощью 7Т магнитно-резонансного томографа фирмы Bruker BioSpec 70/30 USR (Bruker, BioSpin, Ettlingen, Germany). МРТ изображения получали с помощью фирменных ресурсов в ParaVision 5.1, а для последующей их обработки – компоновки, проекционных преобразований, объемных реконструкций – применялся программный пакет ImageJ.

На 22 день всех животных брали в острый физиологический эксперимент, в ходе которого под уретановым наркозом (1.2г/кг) им вводили катетеры – в бедренную артерию и в ПЖ, после чего прямым методом измеряли среднее системное давление (срАД), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и систолическое давление в правом желудочке (СПЖД). После декапитации животного изымали внутренние органы для последующей морфометрии, сохраняли ткань печени для анализа содержания убихинола.

Далее извлекали сердце и легкие, промывали в физиологическом растворе от крови, отделяли сердце от легких и снова промывали в чистом физиологическом растворе. Сердце взвешивали, удаляли предсердия, аккуратно отделяли ПЖ, фиксировали его массу на электронных весах. Затем отделяли межсердечную перегородку и левый желудочек сердца. Для оценки степени развития правожелудочковой гипертрофии рассчитывали следующие индексы: индекс гипертрофии ПЖ относительно массы сердца, индекс гипертрофии ПЖ относительно массы желудочков и индекс гипертрофии ПЖ относительно массы тела животного.

После измерения гемодинамических параметров *in vivo*, и проведения морфометрии легких, извлекали правое легкое и располагали его в ванночке с физиологическим раствором Кребса-Хенсляйта, аэрированным карбогеном. Выделяли легочную артерию 1-го порядка. Далее сосуды помещали в термостатированную ванну. Перфузию модифицированным физиологическим раствором Кребса-Хенсляйта осуществляли с постоянным расходом в 2 мл/мин для внутреннего протока и 4 мл/мин для внешнего протока. Температуру раствора поддерживалась на уровне 37-37,5°C. Для изучения реактивности сосудов изолированные сегменты перфузировали с использованием растворов серотонина ( $1 \times 10^{-9}$  М –  $3 \times 10^{-6}$  М) в качестве вазоконстриктора, ацетилхолина ( $1 \times 10^{-9}$  М –  $1 \times 10^{-5}$  М) в качестве вазодилатора (для оценки способности эндотелий-зависимой релаксации) и нитропрусида натрия ( $1 \times 10^{-9}$  М –  $1 \times 10^{-5}$  М) в качестве вазодилатора (эндотелий-независимая вазодилатация). О реакции сосудов судили по изменению перфузионного давления (ПД), которое регистрировали электронным манометром с регистрацией программой PowerGraph 3.0 (Россия).

Анализ тканевого содержания CoQ10 в печени проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с электрохимическим

детектированием по методике (Kalenikova E. I.; Pharm Chem Journal. 2018; 51(11); P. 949–953). Регистрацию и обработку хроматографических данных проводили с помощью компьютерной программы фирмы «Environmental Sciences Associate, Inc.», (США).

Для определения уровней экспрессии микроРНК в ткани ПЖ была выполнена обратная транскрипция с использованием наборов праймеров miScript II RT Kit (Qiagen GmbH, Германия) для каждой микроРНК. Второй этап количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) был выполнен с помощью набора miScript SYBR® Green PCR Kit (Qiagen GmbH, Германия). Циклы ПЦР-РВ проводились на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Данные, собранные в ходе эксперимента, оформлены и представлены в виде среднее  $\pm$  стандартное отклонение (SD) или среднее  $\pm$  ошибка среднего (SEM). Статистический анализ данных проводили в программах Statistica 12.0 (Statistica Inc., США) и GraphPad Prism 8.0. Статистический метод для каждого сравнения указан в описании к рисункам и таблицам. Как статистически значимый, принимали уровень доверительной вероятности  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Половые различия контрольных животных**

Наблюдение за динамикой изменения массы тела показало, что у здоровых животных интенсивность набора массы достоверно различалась. Прирост массы у самцов был в среднем в два раза выше, чем у самок. У здоровых самцов масса последовательно увеличивалась на 10%, 20%, 27,5%, а у самок на 3,5%, 9,8% и 15% на 7, 14 и 21 дни эксперимента соответственно.

По результатам еженедельного измерения плетизмографическим методом систолического артериального давления в хвостовой артерии значимых изменений внутри контрольных групп самцов и самок не наблюдалось. Значения срАД, ЧСС и СПЖД, измеренные прямым методом, а также массы легких у самок и самцов были сопоставимы.

Среднее значение одного из индексов гипертрофии (масса ПЖ/(масса перегородки+масса левого желудочка сердца) у самцов достоверно превышало таковое у самок,  $p < 0,01$ , что связано с различиями в массе правого желудочка и массе тела.

При изучении доза-зависимого ответа легочных сосудов контрольных самцов и самок крыс суживающий ответ на перфузию растворами серотонина в концентрациях  $1 \times 10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  М в группе самцов был  $10,4 \pm 4,2$ ,  $21,9 \pm 3,0$ ,  $26,55 \pm 3,6$  мм рт.ст., что более чем в 5 раз превышает эти показатели у самок  $2,7 \pm 5,4$ ,  $2,9 \pm 4,9$ ,  $5,1 \pm 4,9$  мм рт.ст. ( $p < 0,01$ ) (рис.1А).

Доза-эффект на эндотелий-зависимый расширительный фактор – ацетилхолин (АЦХ) развивался у животных разных полов по-разному: у самцов эффект расширения развивался

доза-зависимо и достигал максимума при концентрации АЦХ  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  и составлял  $29,4 \pm 3,9\%$ ; у самок максимальное расширение на АЦХ наблюдалось при концентрации  $1 \times 10^{-9} \text{M}$  и составляло  $23,0 \pm 12\%$ . Однако достоверных различий показано не было, ввиду существенных разбросов в реакции легочных сосудов самок на АЦХ в отдельных опытах (рис.1B).

Были обнаружены статистически значимые различия в расширительных реакциях легочных сосудов между самцами и самками в ответ на эндотелий-независимый расширительный фактор – нитропруссид натрия (SNP). Расширение в легочных сосудах самок было выражено в значительно большей степени, чем у самцов. Так, в диапазоне концентраций  $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-6} \text{M}$  расширение сегментов легочных сосудов самок достигало 80-100% от исходных значений сосудистого тонуса, создаваемого серотонином. В то время как у самцов при этих же концентрациях SNP расширение составляло 18-36 % (рис. 1C).

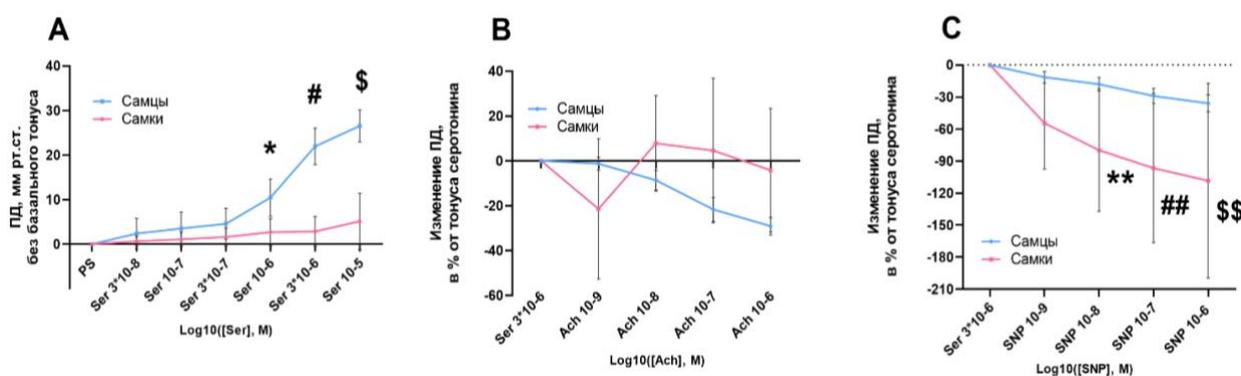


Рисунок 1. А – Доза-ответ изолированных легочных сосудов самок и самцов в ответ на перфузию растворами серотонина ( $3 \times 10^{-8} - 10^{-5} \text{M}$ ); В – реакция изолированных легочных сосудов в ответ на перфузию растворами ацетилхолина, С – нитропруссид натрия на фоне тонуса, создаваемого серотонином  
 А \*,\$, самцы vs самки,  $p < 0,01$ , С \*\*,##, \$\$\$ самки vs самцы,  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ , Two way ANOVA

Гематологический анализ крови показал, что у самцов кислород-транспортная функция крови реализуется в основном за счет увеличения в крови количества красных кровяных телец  $8,1 \pm 0,63$  vs  $7,0 \pm 1,1$ , и гематокрита  $47,4 \pm 3,0$  vs  $43,5 \pm 6,3$ ,  $p < 0,05$ , а у самок преимущественно путем увеличения концентрации гемоглобина в эритроците  $308,8 \pm 3,75$  vs  $321,0 \pm 20,2$ ,  $p < 0,01$ .

Таким образом, было установлено, что скорость набора массы самок существенно ниже, а их лёгочные сосуды обладают меньшей сократительной способностью в ответ на перфузию растворами серотонина и большей расширительной способностью при перфузии растворами нитропруссид натрия, в отличие от самцов. Исходно у самцов повышен уровень гематокрита и эритроцитов, а у самок эритроциты в среднем содержат больше гемоглобина.

## Эффекты солюбилизованного убихинола на течение 3х-недельной МКТ-ЛГ у самцов и самок крыс

Определение содержания убихинола в печени методом ВЭЖХ на 22 день эксперимента показало, что при его внутривенном введении содержание убихинола возрастает более чем в 40 раз, что подтверждает высокую биодоступность препарата.

Применение МКТ замедляло рост животных обоих полов, а группы самок набирали массу в среднем в два раза менее интенсивно, чем самцы, прибавляя до 16% от первоначальной массы к концу эксперимента (vs 30% у самцов).

Эффектов оказываемых применением МКТ и исследуемыми веществами на системное кровообращение отмечено не было: значения среднего систолического давления в хвостовой артерии между группами, а также срАД и ЧСС, измеренные прямым методом в среднем, не отличались.

Убихинол, вводимый внутривенно, не повлиял на значения СПЖД, во всех МКТ-группах самцов и самок, его величина была значительно выше (на  $\approx 25\%$  у самцов и  $\approx 15\%$  у самок) по сравнению с группами контроля и составляла  $45,7 \pm 5,6$  и  $45,0 \pm 5,1$  мм рт.ст. (МКТ-Растворитель самцы и самки),  $44,4 \pm 5,2$  и  $44,3 \pm 5,8$  мм рт. ст. (МКТ-Убихинол самцы и самки) vs  $38,6 \pm 5,6$  и  $35,8 \pm 3,5$  мм рт. ст. (Контроль самцы и самки), что свидетельствует о развитии легочной гипертензии.

При оценке гипертрофии правого желудочка сердца было установлено, что масса ПЖ в группе МКТ-Растворитель в сравнении с контрольными животными как у самцов, так и у самок достоверно увеличена по показателям всех индексов гипертрофии (табл.1). В группе МКТ-Убихинол различие замечено только при расчете 3 индекса гипертрофии у самок.

**Таблица 1.** Масса и индексы гипертрофии правого желудочка сердца у самок и самцов крыс на 21 день эксперимента

Группа	n	Масса ПЖ, г	Индекс 1, у.е.	Индекс 2, у.е.	Индекс 3, у.е.*1000
<b>Самцы</b>					
Контроль	16	$0,167 \pm 0,027$	$0,221 \pm 0,021$	$0,319 \pm 0,041$	$0,646 \pm 0,19$
МКТ-Растворитель	10	$0,208 \pm 0,044$	$0,259 \pm 0,060^*$	$0,413 \pm 0,161^\#$	$0,881 \pm 0,184^\$$
МКТ-Убихинол	9	$0,183 \pm 0,045$	$0,233 \pm 0,030$	$0,355 \pm 0,08$	$0,755 \pm 0,115$
<b>Самки</b>					
Контроль	12	$0,150 \pm 0,022$	$0,198 \pm 0,024$	$0,301 \pm 0,051$	$0,636 \pm 0,0835$
МКТ-Растворитель	11	$0,186 \pm 0,070$	$0,246 \pm 0,042^\$$	$0,420 \pm 0,114^€$	$0,828 \pm 0,248^\$$
МКТ-Убихинол	11	$0,179 \pm 0,040$	$0,235 \pm 0,036$	$0,376 \pm 0,096$	$0,805 \pm 0,187^\$$

Самцы  $^*.\#.\$$  МКТ-Растворитель vs Контроль,  $p < 0,05$ , Самки  $^\$.€.\$$  МКТ-Растворитель vs Контроль,  $p < 0,05$ ,  $^\$$  МКТ-Убихинол vs Контроль,  $p < 0,05$ , One way ANOVA

Анализ изменения массы легких у самцов и самок с 3х-недельной МКТ-ЛГ показал, что независимо от пола значение массы легких достоверно увеличено только в группе МКТ-Растворитель  $1,79 \pm 0,39$  г и  $1,79 \pm 0,21$  г при сравнении с группами контроля  $1,50 \pm 0,14$  г и  $1,45 \pm 0,27$  г ( $p < 0,05$ ). У самцов и самок, подвергшихся хроническому внутривенному

введению убихинола, масса легких составляла  $1,65 \pm 0,24$  г и  $1,57 \pm 0,23$  г соответственно и была статистически неотличима от группы контрольных животных.

При изучении реактивности сосудов самцов была выявлено увеличение сократительного ответа на серотонин в группах МКТ-Растворитель и МКТ-Убихинол по сравнению со здоровым контролем (рис.2А). У самок, напротив, применение препарата оказало протективное влияние и реакция сосудов животных, которые получали убихинол, не отличалась от контроля. В группе МКТ-Растворитель наблюдалось значимое увеличение суживающей реакции на серотонин в диапазоне концентраций от  $3 \times 10^{-7}$  М до  $3 \times 10^{-6}$  М по сравнению с группой Контроль и группой МКТ-Убихинол (рис.2В).

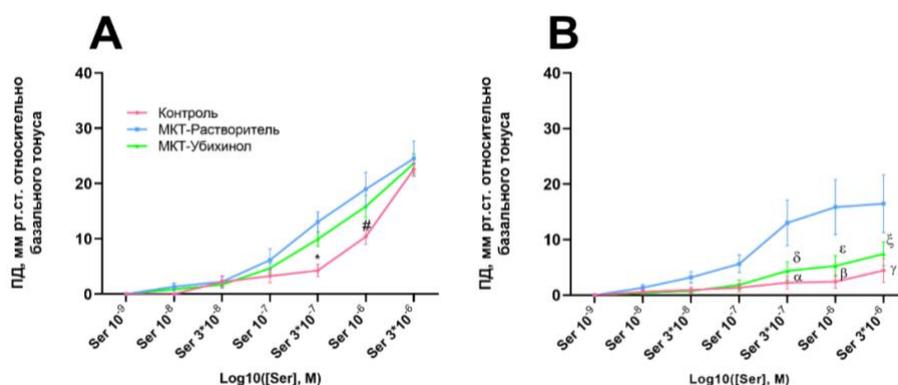


Рисунок 2. Зависимость доза-эффект тонуса легочных сосудов самцов (А) и самок (В) в ответ на перфузию растворами серотонина

Самцы <sup>\*</sup>Контроль vs МКТ-Растворитель,  $p < 0,05$ , МКТ-Убихинол,  $p < 0,001$ ; самки <sup>α</sup>Контроль vs МКТ-Растворитель,  $p < 0,01$ , <sup>β</sup> $p < 0,0001$ , <sup>γ</sup> $p < 0,001$ ; <sup>ε, γ</sup>МКТ-Убихинол vs МКТ-Растворитель,  $p < 0,05$ , <sup>ζ</sup> $p < 0,01$ , Two way ANOVA

Изучение реактивности изолированных сосудов всех экспериментальных групп самцов на эндотелий-зависимый расширительный агент АЦХ выявило уменьшение расширительной реакции в группе МКТ-Растворитель как по сравнению с группой контроля, так и группой МКТ-Убихинол при концентрации АЦХ  $1 \times 10^{-7}$  –  $1 \times 10^{-6}$  М. Различий между группами Контроля и МКТ-Убихинол выявлено не было (рис. 3). У самок во всех экспериментальных группах наблюдались значительные колебания как в величине расширительного ответа на АЦХ, так и его направленности, ввиду чего статистически значимых различий выявлено не было.

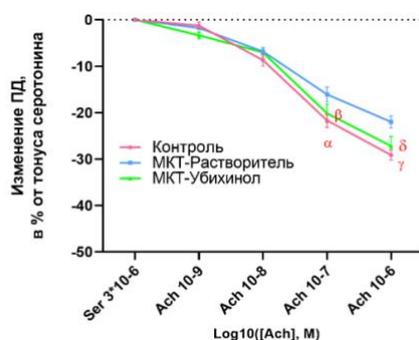


Рисунок 3. Доза-эффект изолированных сегментов легочных сосудов самцов в ответ на перфузию растворами ацетилхолина на фоне тонуса, создаваемого раствором серотонина в концентрации  $3 \times 10^{-6}$  М <sup>α</sup>Контроль vs МКТ-Растворитель,  $p < 0,01$ , <sup>γ</sup> $p < 0,0001$ ; <sup>β</sup>МКТ-Убихинол МКТ-Растворитель,  $p < 0,05$ , <sup>δ</sup> $p < 0,01$ , Two way ANOVA

У самцов развитие МКТ-гипертензии в группе гипертензивного контроля (МКТ-Растворитель) сопровождается уменьшением АЦХ-вызываемого эндотелий-зависимого расширения, что свидетельствует об ухудшении функции эндотелия. В гипертензивной группе, которой вводился убихинол, величина эндотелий-зависимое расширения увеличивалась и не отличалась от контрольных.

Изучение ответов изолированных сосудов животных всех экспериментальных групп в ответ на перфузию растворами эндотелий-независимый расширительного фактора – нитропрусида натрия не выявило достоверных отличий.

Таким образом, в группе МКТ-Убихинол регистрировали статистически значимое увеличение только значений СПЖД, в то время как относительная масса правого желудочка сердца статистически не отличалась от контрольных величин, как у самцов, так и самок крыс. Кроме того, в этой группе не отмечалось и увеличение массы легких, которое присутствовало в группе МКТ-Растворитель. У самок – наблюдается уменьшение реактивности к сосудосуживающему фактору серотонину. У самцов – увеличивается реактивность к эндотелий-зависимому расширительному фактору – АЦХ, то есть применение убихинола нивелировало деструктивные изменения эндотелия сосудов, вызываемое развитием МКТ-ЛГ (Абдуллаев Ш. Эксп. клин. фармакол. 2019; 85(5); Р. 20–23).

### **Эффекты солибулизированного убихинола на течение 4х-недельной МКТ-ЛГ у самцов крыс**

Как и в предыдущих экспериментах инъекция МКТ приводила к замедлению набора массы тела по сравнению с контрольной группой здоровых животных.

Измерение систолического давления у бодрствующих животных показало, что во всех группах составляло в среднем  $116 \pm 15$  мм рт. ст. Данные, полученные в остром опыте, подтверждают отсутствие влияния МКТ, препарата убихинола и его растворителя на величину сРАД и ЧСС на большой круг кровообращения так как достоверных отличий между группой условно здорового контроля и МКТ-группами на 28 день эксперимента показано не было. Величины сАД и ЧСС составляли  $98 \pm 3$ ,  $102 \pm 10$ ,  $98 \pm 8$  мм рт. ст и  $354.2 \pm 10$ ,  $362 \pm 12$ ,  $342 \pm 17$  уд/мин для групп Контроль, МКТ-Растворитель и МКТ-Убихинол соответственно.

Значения СПЖД через 4 недели после инъекции МКТ были достоверно выше в среднем на 50% во всех МКТ-группах в сравнении с контролем. Однако, следует отметить, что значения СПЖД в МКТ-группах через 28 дней наблюдения были достоверно выше аналогичных значений в эксперименте, выполнявшемся в течение 21 дня и составляли  $57,6 \pm 9,1$  и  $58,1 \pm 9,8$  мм рт.ст. в группах МКТ-Растворитель и МКТ-Убихинол соответственно

vs  $38,6 \pm 5,6$  мм рт.ст. в группе Контроль ( $p < 0,01$ ). Данный факт говорит о более тяжелой степени развития легочной гипертензии (рис.4).

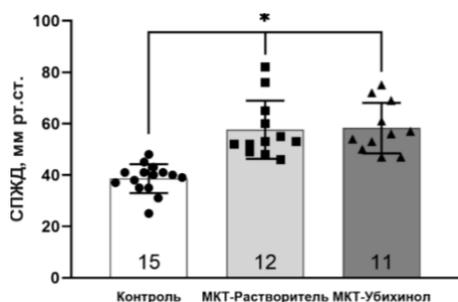


Рисунок 4. Величина систолического давления в правом желудочке на 28 день после начала эксперимента

\*Контроль vs МКТ-Растворитель, МКТ-Убихинол,  $p < 0,01$ , One way ANOVA

Исследование индексов массы сердца, как второго симптома развития ЛГ показало, что масса правого желудочка достоверно увеличилась в группах МКТ-Растворитель и МКТ-Убихинол ( $p < 0,05$ ). Таким образом, протективный эффект, показанный в предыдущем опыте, при увеличении времени наблюдения нивелировался. Разницы между экспериментальными МКТ-группами, ни по одному из индексов показано не было, что отличает влияние убихинола на развитие МКТ-ЛГ при ее 4-х недельном развитии (табл.2).

**Таблица 2.** Масса и индексы гипертрофии правого желудочка сердца у самок и самцов крыс на 21 день эксперимента

Группа	n	Масса ПЖ, г	Индекс 1, у.е.	Индекс 2, у.е.	Индекс 3, у.е.*1000
Контроль	15	$0,161 \pm 0,029$	$0,217 \pm 0,024$	$0,304 \pm 0,086$	$0,641 \pm 0,08$
МКТ-Растворитель	11	$0,212 \pm 0,039^*$	$0,262 \pm 0,025^\#$	$0,438 \pm 0,055^\$$	$0,892 \pm 0,16^\&$
МКТ-Убихинол	13	$0,208 \pm 0,055^\%$	$0,268 \pm 0,037^\@$	$0,461 \pm 0,119^\? $	$0,903 \pm 0,259^\!$

\*, #, \$, & МКТ-Растворитель, %, @, ?, ! МКТ-Убихинол vs Контроль,  $p < 0,01$ , One way ANOVA

При измерении массы легких, разница с группой Контроль была показана только в группе МКТ-Растворитель и составила  $1,54 \pm 0,15$  г vs  $1,68 \pm 0,23$  г ( $p < 0,05$ ). Достоверных отличий у животных из контрольной группы с группой МКТ-Убихинол ( $1,68 \pm 0,18$  г) по-прежнему не наблюдалось. По-видимому, применение убихинола предотвращает структурные изменения в легких животных с МКТ-ЛГ даже при более тяжелом развитии патологии.

При изучении реактивности легочных сосудов было показано, что при перфузии растворами серотонина отмечается значимая сократительная реакция в группе МКТ-Растворитель начиная с  $10^{-7}$ М до  $3 \times 10^{-6}$ М по сравнению с двумя другими группами ( $p < 0,05$ ). При этом величины сократительных ответов легочных сегментов сосудов из группы МКТ-Убихинол статистически значимо не отличались от группы негипертензивного контроля. Однако, при достижении концентрации серотонина  $3 \times 10^{-6}$ М это отличие нивелировалось (рис.5А).

Анализ результатов измерения доза-зависимого расширительного эффекта изолированных перфузируемых легочных сосудов крыс в ответ на ацетилхолин показал, что сосуды животных из групп Контроль и МКТ-Убихинол в концентрациях от  $10^{-7}$  до  $10^{-5}$  М

( $p < 0,05$ ) расширяются значительно сильнее  $-27,2 \pm 7,1\%$  и  $-31,7 \pm 6,3\%$  соответственно, чем в группе МКТ-Растворитель  $-22,0 \pm 4,3\%$  ( $p < 0,05$ ) (рис.5В).

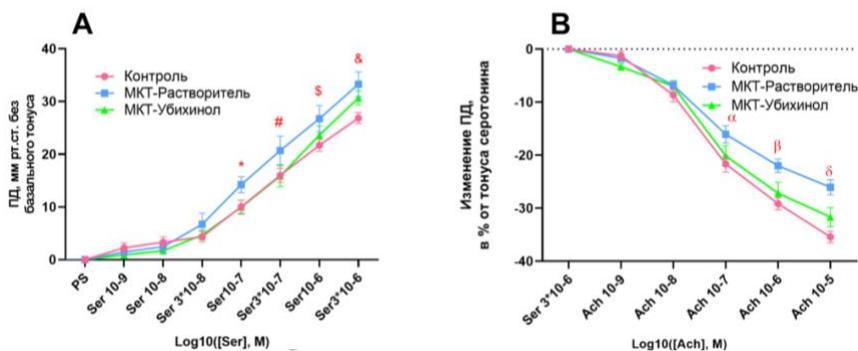


Рисунок 5. Реакция изолированных легочных сосудов на перфузию растворами (А) серотонина, (В) ацетилхолина в различных концентрациях у самцов на 28 день наблюдения

\*,#,§ МКТ-Растворитель vs Контроль, МКТ-Убихинол,  $p < 0,05$ , &,á МКТ-Растворитель vs Контроль,  $p < 0,05$ , β,δ МКТ-Растворитель vs Контроль, МКТ-Убихинол,  $p < 0,05$ , Two way ANOVA

Известно, что синтез оксида азота в эндотелии сосудов в значительной степени зависит от уровня окислительного стресса в ткани и связанной с ним воспалительной реакции. Для оценки уровня воспаления в группах с МКТ-ЛГ было проведено исследование уровней экспрессии маркёров развития воспаления (микроРНК-34а) и гипертрофии (микроРНК-21) в образцах ткани правого желудочка сердца крыс. Были выявлены достоверные отличия в экспериментальных группах МКТ-Растворитель и МКТ-Убихинол в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ). Так, экспрессия микроРНК-21 в МКТ-Убихинол возросла в 3,92 раза, а МКТ-Растворителя – в 4,26 раза, однако, между собой экспериментальные группы достоверно не отличались (рис.6А).

Экспрессия микроРНК-34а была достоверно выше во всех экспериментальных группах по сравнению с контролем. Однако, сравнение между экспериментальными группами выявило, что экспрессия микроРНК-34а была достоверно ниже в тканях правого желудочка животных, которым вводился убихинол по сравнению с группой гипертензивного контроля (МКТ-Растворитель). Увеличение микроРНК-34а составило 2,24 раза в МКТ-Убихинол, в то время как для группы МКТ-Растворитель оно составляло 2,80 ( $p < 0,05$ ) (рис.6В).

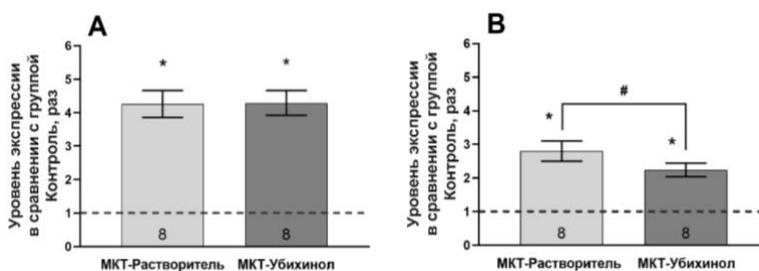


Рисунок 6. Уровень экспрессии микроРНК-21 (А) и микроРНК-34а (В) в группах МКТ-Растворитель и МКТ-Убихинол относительно контрольной группы (уровень указан пунктирной линией).

\*МКТ-Растворитель, МКТ-Убихинол vs Контроль,  $p < 0,01$ , #МКТ-Растворитель vs МКТ-Убихинол,  $p < 0,05$ , One way ANOVA.

Таким образом, анализ результатов уровня экспрессии маркеров микроРНК выявил достоверно значимое влияние убихинола на маркер развития воспаления в ткани правого желудочка на фоне развития лёгочной гипертензии, но в то же время показано, что внутривенно вводимый убихинол не влиял на маркер гипертрофии. Несмотря на отсутствие влияния на главные признаки заболевания (СПЖД и гипертрофии ПЖ), убихинол предположительно замедляет фиброзные изменения легких. Убихинол уменьшает чувствительность легочных сосудов к серотонину, и увеличивает эндотелий-зависимый расширительный ответ на перфузию растворами ацетилхолина (Kuropatkina T. Res Results Pharmacol. 2021; 7(3) P. 23–31).

Последующее исследование было решено проводить на менее тяжелой 3х-недельной модели, где согласно задачам данной работы, также был добавлен селен в дозе 10 мкг/кг с целью потенцирования основных эффектов, оказываемых убихинолом на основные маркеры.

### **Влияние комбинации солибутилизованного убихинола и селена на течение 3х-недельной МКТ-ЛГ у самцов и самок крыс**

Наблюдение за динамикой изменения массы тела у самок и самцов показало, что животные росли неравномерно. Аналогично предыдущим экспериментам, самцы увеличивали массу с средним в два раза быстрее, чем самки, что связано с анаболическими эффектами тестостерона у самцов, однако в группе МКТ-Se самцов в последнюю неделю эксперимента набор массы остановился, достигнув  $227 \pm 27$  г.

Не было отмечено влияния МКТ или изучаемых веществ на гемодинамику большого круга кровообращения как внутри, так и между группами самцов и самок.

В остром опыте показано, что срАД варьировалось незначительно и составляло  $95 \pm 12$ ,  $98 \pm 8$ ,  $90 \pm 10$ ,  $92 \pm 20$ ,  $94 \pm 12$  мм рт. ст. и  $94 \pm 10$ ,  $91 \pm 9$ ,  $89 \pm 7$ ,  $90 \pm 7$ ,  $89 \pm 7$  в группах Контроль, МКТ-Растворитель, МКТ-Убихинол, МКТ-Se и МКТ-Se-Убихинол самцов и самок соответственно. ЧСС также не различалась как внутри групп, так и между группами, и в среднем у самцов была на уровне  $356 \pm 29$  уд/мин, а у самок  $358 \pm 33$  уд/мин, что говорит об отсутствии влияния инъекции МКТ в дозе 60 мг/кг и применении растворителя, убихинола и селена на основные показатели большого круга кровообращения.

Как уже отмечалось, увеличение СПЖД – один из ведущих признаков наличия легочной гипертензии. Было показано, что величина СПЖД у самцов из группы МКТ-Se-Убихинол ( $42,6 \pm 3,0$  мм рт.ст.) достоверно не отличались от группы контроля ( $38,4 \pm 7,7$  мм рт.ст.), т.е. по этому показателю у животных, получавших инъекцию убихинола и селен ежедневно. В остальных группах наблюдалось статистически значимое повышение СПЖД на 37% (рис.7). Важно отметить, что среди самок присутствовали животные, величина

СПЖД, которых, не превышала нормальных значений ( $\approx 40$  мм рт. ст.), чего почти не наблюдалось у самцов.

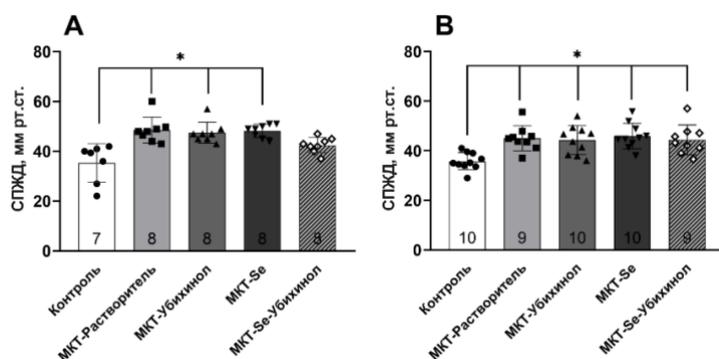


Рисунок 7. Систолическое давление в правом желудочке сердца у самцов (А) и самок (В) крыс на 21 день эксперимента. Самцы \*Контроль vs MKT-группы,  $p < 0,05$ , One way ANOV

У контрольных самцов и самок средние значения всех индексов в группе достоверно ниже, чем в группах MKT-Растворитель и MKT-Se ( $p < 0,05$ ). Различий между группами самцов и самок MKT-Убихинол и MKT-Se-Убихинол с группами соответствующего контроля ни по одному из индексов у животных обоих полов не выявлено (табл.3). Эти данные подтверждают результаты предыдущих экспериментов и свидетельствуют о защитном действии убихинола на массу ПЖ сердца при MKT-ЛГ.

Таблица 3. Масса и индексы гипертрофии правого желудочка сердца у самок и самцов крыс на 21 день эксперимента

Группа	n	Масса ПЖ, г	Индекс 1, у.е.	Индекс 2, у.е.	Индекс 3, у.е.*1000
<b>Самцы</b>					
Контроль	8	0,167±0,017	0,202±0,016*	0,300±0,027#	0,611±0,057 <sup>o</sup>
МКТ-Растворитель	9	0,186±0,037	0,248±0,041	0,413±0,109	0,877±0,328
МКТ-Убихинол	8	0,182±0,022	0,237±0,038	0,376±0,053	0,740±0,115
МКТ-Se	9	0,174±0,023	0,248±0,026	0,401±0,783	0,796±0,171
МКТ-Se- Убихинол	8	0,185±0,026	0,242±0,029	0,379±0,058	0,751±0,094
<b>Самки</b>					
Контроль	12	0,150±0,022	0,198±0,024 <sup>s</sup>	0,301±0,050 <sup>e</sup>	0,636±0,0835 <sup>z</sup>
МКТ-Растворитель	11	0,186±0,070	0,246±0,042	0,420±0,114	0,828±0,248
МКТ-Убихинол	11	0,168±0,023	0,225±0,020	0,350±0,043	0,754±0,083
МКТ-Se	11	0,175±0,035	0,243±0,036	0,403±0,086	0,792±0,148
МКТ-Se- Убихинол	10	0,164±0,020	0,225±0,045	0,360±0,084	0,733±0,113

Самцы <sup>\*,#,o</sup>Контроль vs MKT-Растворитель, MKT-Se,  $p < 0,05$ , самки <sup>s,e,z</sup>Контроль vs MKT-Растворитель, MKT-Se,  $p < 0,05$ , one way ANOVA

Масса легких у самцов при сравнении с группой Контроль ( $1,39 \pm 0,22$  г) существенно не отличалась от групп MKT-Убихинол ( $1,78 \pm 0,39$  г) и MKT-Se-Убихинол ( $1,53 \pm 0,30$  г), а масса легких животных из остальных MKT-Групп была, напротив, значимо выше ( $1,79 \pm 0,3$  г) MKT-Растворитель и MKT-Se ( $2,03 \pm 0,4$  г) ( $p < 0,05$ ) (рис.8А). Также отмечено отличие между группами самцов MKT-Se и MKT-Se-Убихинол ( $p < 0,05$ ). У самок по массе легких только группа MKT-Убихинол не отличалась от группы Контроль. Между самцами и самками разницы не обнаружено (рис.8В).

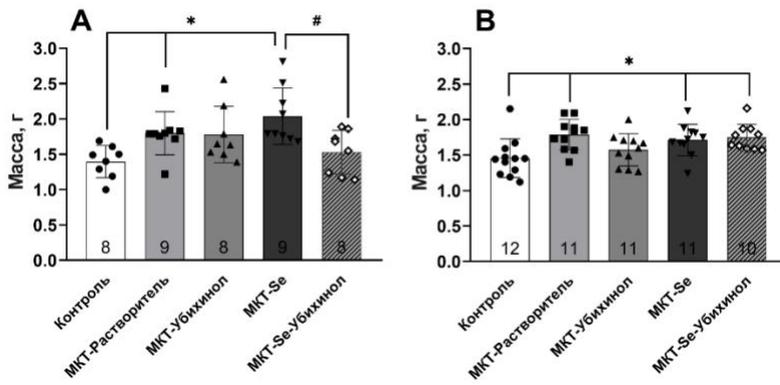


Рисунок 8. Масса легких у самцов (А) и самок (В) крыс на 21 день эксперимента  
 Самцы, самки \*Контроль vs MKT-Растворитель, MKT-Se,  $p < 0,05$ , # самцы MKT-Se и MKT-Se-Убихинол,  $p < 0,05$ , One Way ANOVA.

Поскольку влияние убихинола на массу легких было неоднократно отмечено в экспериментах на самцах, то в заключительном эксперименте на самках было решено провести МРТ-исследование за два дня до острого эксперимента. МРТ двух крыс показаны на рис.9. Фрагмент А представляет здоровую крысу, а фрагмент В – крысу с фиброзными изменениями в легких. На 1H МР-изображениях (верхние строки рис. 9) фиброз выявляется в виде белых пятен на ткани легких. Фиброзная ткань препятствует вентиляции газов, что визуализируется как потеря сигнала на 19F МРТ-изображениях (нижние ряды).

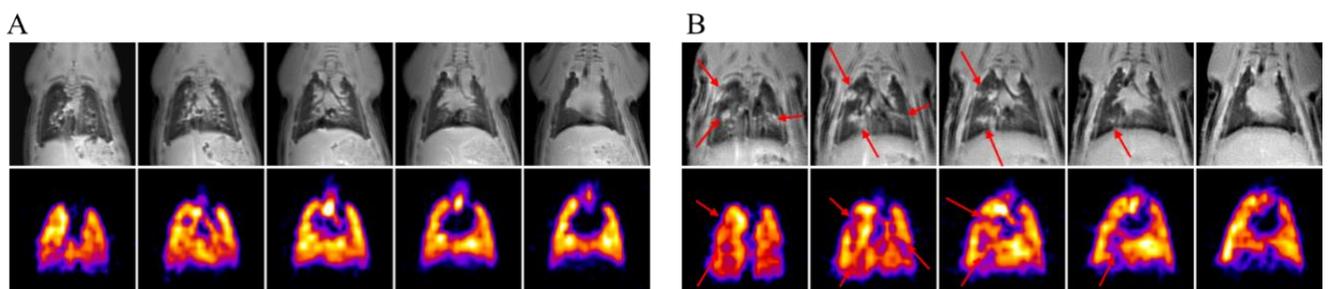


Рис.9 МРТ двух крыс без (А) и с (В) фиброзом легких: выбранные срезы 1H (верхний ряд) и 19F (средний ряд) МРТ в корональной проекции. Красные стрелки указывают на фиброзные изменения в легких.

МРТ-визуализация легких позволила выявить, что у животных из групп MKT-Растворитель, MKT-Se и MKT-Se-Убихинол на 1H МРТ-изображениях чаще отмечались фиброзные изменения, что влияло на их вентилируемость. Кроме того, почти у всех исследованных животных с легочной гипертензией было отмечено нарушение вентилируемости (19F МРТ), независимо от наличия фиброзных очагов. Интересно отметить, что в экспериментальных группах нарушения перфузии чаще наблюдались преимущественно в одной доле легких, в то время как другая перфузировалась лучше. У животных группы MKT-Убихинол фиброз легких наблюдался реже ( $p > 0,05$ ), однако при визуальном сравнении с контрольными животными у них, как и у остальных гипертензивных животных, отмечалось нарушение вентилируемости.

При изучении реактивности легочных сосудов самок было показано, что при перфузии растворами серотонина отмечается существенно большая сократительная реакция в группе MKT-Se начиная с концентрации  $1 \times 10^{-7}$ , а в группе MKT-Растворитель с  $3 \times 10^{-6}$  до

$1 \times 10^{-5}$  моль/л в сравнении с группой контроля и достигли максимальной точки  $10,0 \pm 2,2$  и  $16,5 \pm 5,2$  мм рт. ст. соответственно ( $p < 0,05$ ) (рис.10).

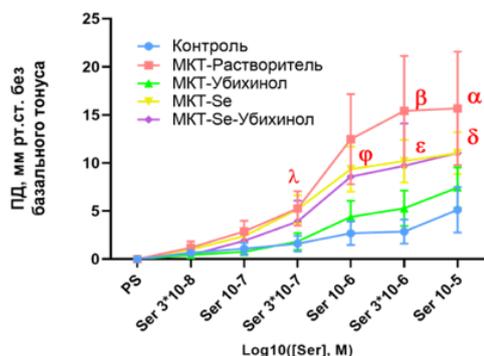


Рисунок 10. Реакция изолированных сегментов легочных сосудов самок на перфузию растворами серотонина.

$\alpha, \beta$  МКТ-Растворитель vs Контроль,  $p < 0,05$ ,  
 $\lambda, \phi, \epsilon, \delta$  МКТ-Se vs Контроль,  $p < 0,05$ , two way ANOVA

Максимальное эндотелий-зависимое расширение в ответ на перфузию растворами ацетилхолина было продемонстрировано в группе Контроля в концентрации  $10^{-9}$  моль/л и составило  $47 \pm 12,5\%$ . В группе МКТ-Se-Убихинол наибольшее расширение наблюдали при концентрации  $10^{-5}$  моль/л ( $38 \pm 33\%$ ). Ввиду существенных отклонений в реакциях изолированных сегментов легочных артерий отдельных животных, различий между группами показано не отмечено.

Эндотелий-независимое расширение в ответ на перфузию растворами нитропруссид натрия – донора оксида азота, показало похожую реакцию во всех экспериментальных группах, однако статистически достоверных отличий в расширительной реакции не обнаружено.

По результатам гематологических исследований уровень лейкоцитов у самцов в группе МКТ-Убихинол был выше, чем в группе МКТ-Se ( $p < 0,05$ ), а также достоверно отличался от аналогичной группы самок ( $p < 0,05$ ). Внутри групп самок достоверных различий не было обнаружено. Во всех группах самок показатель среднего объема эритроцита был в среднем на 6% больше такового у самцов ( $p < 0,05$ ). Также среднее содержание гемоглобина и его средние содержание и концентрация в эритроците у самок были достоверно выше, чем у аналогичных групп самцов ( $p < 0,05$ ). Данное различие можно рассматривать как зависимую от пола реализацию кислородной функции крови, коротая отмечена у здоровых животных и сохраняется при развитии изучаемой патологии.

Важно отметить, что статистического увеличения СПЖД в сравнении с группами здоровых животных в группе МКТ-Se-Убихинол не было показано у самцов, что говорит об отсутствии гипертензии по данному параметру. По сравнению с контролем гипертрофия была так же слабо выражена в обеих группах, получавших комбинацию селена и убихинола (МКТ-Se-Убихинол), что указывает на более выраженный протективный эффект такой комбинации в отношении развития МКТ-ЛГ по сравнению с использованием одного убихинола.

На снижение массы легких селен и убихинол оказали совместный эффект только у самцов, где не было зафиксировано никакой разницы в группе МКТ-Убихинол и МКТ-Se-Убихинол. В группе самок убихинол приводил к сопоставимости массы легких животных с МКТ-ЛГ и контрольных животных. В группах МКТ-Растворитель и МКТ-Se, вероятно, эндотелий сосудов был поврежден сильнее, о чем свидетельствует более выраженное сокращение при перфузии изолированных сегментов легочных сосудов растворами серотонина (Kuropatkina T. Antioxidants. 2022; 11(3); P. 549).

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом можно заключить, что убихинол вносит основной вклад в предупреждении увеличения массы правого желудочка сердца и фиброза легких. При этом оптимальным для исследования веществ является 3х-недельная модель МКТ-ЛГ, так как именно на патологии средней тяжести возможно заметить эффекты, реализуемые на целом животном. Применение селена не оказало значимых влияний на течение патологии, а ее комбинация с убихинолом позволила сдержать нарастание СПЖД у самцов, чего не вызывает один убихинол.

Пол-зависимая регуляция реактивности изолированных легочных сосудов была выявлена как у нормотензивных, так и гипертензивных животных. Развитие МКТ-ЛГ сопровождается увеличением реактивности у самок к серотонину, а у самцов – уменьшением эндотелий-зависимого расширения. Убихинол нивелировал это пол-зависимое изменение реактивности изолированных легочных сосудов к вазоактивным факторам, вызываемое развитием МКТ-ЛГ. Все вышесказанное позволяет предположить, что выявленные изменения реактивности изолированных легочных сосудов под действием убихинола являются одним из механизмов реализации протективной роли убихинола в отношении развития МКТ-ЛГ. Другой возможный механизм связан с подавлением воспаления, отмеченном в ткани правого желудочка сердца в виде снижения уровня экспрессии воспалительного маркера микроРНК-34а.

В большинстве групп была отмечена разница между самцами и самками в регуляции дыхательной функции крови – у самцов в чаще увеличивались содержание гемоглобина, эритроцитов и гематокрит, а у самок наблюдалось увеличение среднего объема эритроцита и содержание в нем гемоглобина.

## ВЫВОДЫ

1. Протективное действие препарата убихинола, вводимого внутривенно в дозе 30 мг/кг в отношении монокроталин-индуцированной легочной гипертензии проявляется в предупреждении увеличения массы правого желудочка сердца у самцов и у самок крыс стока Wistar при 3-недельной форме монокроталин-индуцированной легочной гипертензии. На модели более тяжелой формы заболевания этот эффект не проявляется. Комбинация убихинола с селеном, вводимым внутривенно в дозе 10 мг/кг, также оказывает протективное действие, предупреждает увеличение систолического давления в правом желудочке сердца у самцов. Применение одного селена в используемой дозе не влияет на степень развития легочной гипертензии.
2. Препарат убихинола, вводимый внутривенно в дозе 30 мг/кг, восстанавливает реактивность изолированных легочных сосудов, измененную в ходе развития монокроталин-индуцированной легочной гипертензии. У самок уменьшается констрикторная реакция легочных сосудов на серотонин, у самцов увеличивается степень эндотелий-зависимого расширения.
3. Препарат убихинола, вводимый внутривенно в дозе 30 мг/кг, предупреждает возрастание степени фиброзного повреждения легких у самок и самцов крыс по сравнению с группой животных, его не получавших. У самок убихинол предупреждает нарушение вентиляции легких.
4. Убихинол на модели тяжелой формы монокроталин-индуцированной легочной гипертензии у самцов вызывает снижение экспрессии маркера воспаления микроРНК-34а и восстанавливает реактивность эндотелий-зависимого расширения сосудов, что может рассматриваться как возможные механизмы его протективного действия в отношении развития патологии.
5. Половые различия эффектов препарата убихинола, вводимого внутривенно в дозе 30 мг/кг, на развитие монокроталин-индуцированной легочной гипертензии выявлены в реактивности сосудов к вазоактивным факторам: у самцов выявляется восстановление функции эндотелия, а у самок снижение констрикции к главному сосудосуживающему агенту в легких – серотонину. Положительный эффект комбинации препарата убихинола, вводимого внутривенно в дозе 30 мг/кг, и селена, вводимого внутривенно в дозе 10 мг/кг, проявлялся в виде снижения систолического давления в правом желудочке сердца и массы легких был выражен у самцов, но не у самок.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные в ходе выполнения настоящей научно-исследовательской по изучению действия 1% раствора солюбилизованного убихинола и его комбинации с селеном могут быть учтены при дальнейших доклинических и клинических исследованиях и смогут пополнить терапевтические рекомендации для профилактики и адъювантной терапии не только легочной гипертензии, но и других кардиологических патологий, связанных с оксидативным стрессом и дисфункцией эндотелия.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

*Статьи в журналах индексируемых Scopus, RSCI, Web of Science, из перечня ВАК:*

1. Абдуллаев Ш.П. Эффект внутривенного введения убихинола на развитие монокроталиновой формы легочной гипертензии в экспериментах на крысах [Текст] / Ш.П. Абдуллаев, **Т.А. Куропаткина**, Н.В. Панькова, М.М. Артемьева, В.Г. Макаров, Н.А. Медведева, О.С. Медведев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т. 85. № 5. – С. 20–23.
2. **Куропаткина Т.А.** Роль селена в кардиологии [Текст] / **Т.А. Куропаткина**, Н.А. Медведева, О.С. Медведев // Кардиология. – 2021. –Т. 3. № 61. – С. 96–104.
3. **Kuropatkina T.A.** Ubiquinol ameliorates endothelial dysfunction and increases expression of miRNA-34a in a rat model of pulmonary hypertension [Text] / **T. Kuropatkina**, N. Pankova, N. Medvedeva, O. Medvedev // Research Results in Pharmacology. – 2021. – Vol. 7. № 3. – P. 23–31.
4. **Kuropatkina T.** Sex-Dependent Protective Effect of Combined Application of Solubilized Ubiquinol and Selenium on Monocrotaline-Induced Pulmonary Hypertension in Wistar Rats [Text] / **T. Kuropatkina**, O. Pavlova, M. Gulyaev, Yu. Pirogov, A. Khutorova, S. Stvolinsky, N. Medvedeva, O. Medvedev // Antioxidants. – 2022. – Т.11. – P. 549.

*Тезисы:*

5. **Куропаткина Т.А.**, Медведева Н.А., Медведев О.С. Эффекты применения комбинации солюбилизованного убихинола и селена на монокроталин-индуцированную легочную гипертензию у самцов и самок крыс Wistar. Сборник тезисов докладов Шестой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии». 2020. Т.1. С. 37.
6. **Куропаткина Т.А.**, Медведева Н.А., Медведев О.С. Влияние трехкратного внутривенного введения раствора убихинола на монокроталиновую форму легочной гипертензии у крыс. Фармация. 2020. Специальный выпуск. С. 285-289.

7. **Куропаткина Т.А.**, Абдуллаев Ш.П., Панькова Н.В., Шаповал Н.С., Медведева Н.А., Медведев О.С. Влияние внутривенного применения солюбилизованного убихинола на развитие легочной гипертензии (монокроталиновая модель) у крыс. Сборник тезисов докладов Пятой Междисциплинарной конференции Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии. 2019. Т.1. С. 52.
8. Medvedev O., Abdullaev S., **Kuropatkina T.**, Artemieva M., Medvedeva N. Protective effects of soluble ubiquinol in monocrotaline model of pulmonary hypertension in rats. *European Journal of Heart Failure*. 2019. T.21, №S1. С. 162-163.
9. **Kuropatkina T.**, Abdullaev SH, Medvedeva N., Medvedev O. Ubiquinol reduces miRNA-34a expression in the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *European Journal of Heart Failure*. 2019. V.22, №S1. P. 268-269.
10. Medvedev O., Abdullaev Sh, **Kuropatkina T.**, Artemieva M., Medvedeva N. Protective effects of soluble ubiquinol in monocrotaline model of pulmonary hypertension in rats. *Heart Failure 2019 - 6th World Congress on Acute Heart Failure*. 2019. V.21, №S1. P.162.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЦХ	Ацетилхолин	ПД	Перфузионное давление
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография	ПЖ	Правый желудочек сердца
ЛГ	Легочная гипертензия	ПЦР-РВ	Полимеразная цепная реакция в реальном времени
Микро-РНК	Микрофрагменты рибонуклеиновой кислоты	СПЖД	Систолическое давление в правом желудочке сердца
МКТ	Монокроталин	срАД	Среднее системное артериальное давление
МКТ-ЛГ	Монокроталин-индуцированная легочная гипертензия	ЧСС	Частота сердечных сокращений
МРТ	Магнитно-резонансная томография	SNP	Нитропруссид натрия