

С. А. ТАЛАНОВ<sup>1</sup>, М. Н. ТКАЧЕНКО<sup>1</sup>, О. В. БАЗИЛЮК<sup>1</sup>,  
Л. Г. СТЕПАНЕНКО<sup>1</sup>, В. Ф. САГАЧ<sup>1</sup>

## ХЕМО- И МЕХАНОИНДУЦИРОВАННЫЕ РЕАКЦИИ СОСУДИСТЫХ ГЛАДКИХ МЫШЦ У КРЫС С ХРОНИЧЕСКИМ ДЕФИЦИТОМ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ДОФАМИНА: ВЛИЯНИЕ КОЭНЗИМА Q<sub>10</sub>

Поступила 11.04.09

В опытах на изолированных препаратах сегментов аорты и воротной вены показано, что у крыс с деструкцией нигро-стриатной дофаминергической системы левого полушария (модель гемипаркинсонизма) угнетаются эндотелийзависимые реакции сосудистых гладких мышц (ГМ). Так, амплитуда расслабления ГМ стенки грудного отдела аорты под действием эндотелийзависимого вазодилатора ацетилхолина йодида у таких животных была в четыре раза меньше, а латентный период реакций – в 3.5 раза больше, чем в контроле. Амплитуда же расслабления сосудистых ГМ при аппликации эндотелий-независимого вазодилатора нитропрусида натрия практически не изменялась. Кроме того, в 2.5 раза уменьшался прирост амплитуды фазных сокращений ГМ воротной вены, вызванных предварительным растяжением, причем этот прирост достигал максимума при меньшей дополнительной нагрузке, а жесткость сосудистой стенки увеличивалась. У животных, которые в течение месяца получали с пищей препарат коэнзима Q<sub>10</sub> (10 мг/кг), сократительные реакции сосудистых ГМ частично восстанавливались: амплитуда эндотелийзависимого расслабления аорты возрастала, латентный период данной реакции уменьшался, прирост амплитуды фазных сокращений воротной вены, обусловленных растяжением, увеличивался, а жесткость сосудистой стенки снижалась. Сделан вывод, что в условиях хронического дефицита нигро-стриатного дофамина функциональное состояние эндотелия ухудшается и реактивность сосудов изменяется. По всей видимости, одной из основных причин этих изменений является оксидативный стресс. Коэнзим Q<sub>10</sub> существенно нормализует измененные сосудистые реакции (очевидно, в значительной степени благодаря его антиоксидантным свойствам).

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** дефицит дофамина, болезнь Паркинсона, 6-гидроксидофамин, сосудистые гладкие мышцы, коэнзим Q<sub>10</sub>.

### ВВЕДЕНИЕ

Неотъемлемым компонентом клинических проявлений болезни Паркинсона (БП) являются вегетативные нарушения, которые формируют синдром прогрессирующей вегетативной недостаточности. Вегетативные расстройства могут развиваться на различных этапах развития двигательных нарушений, характерных для данного заболевания, в ряде случаев предшествуя формированию развернутого акинетико-ригидно-дрожательного синдрома.

У пациентов, страдающих БП, частота вегетативных расстройств составляет 100 % [1, 2], и они обычно серьезно усугубляют клиническую картину этого заболевания. В отношении патогенеза таких расстройств высказан ряд предположений, но вопрос о том, являются ли указанные нарушения результатом дефицита церебрального дофамина (ДА) – феномена, лежащего в основе данного заболевания, или следствием общих возрастных изменений (БП страдают, как правило, люди пожилого возраста), на сегодняшний день остается дискуссионным. Недавно на модели гемипаркинсонизма у крыс мы показали, что у молодых животных с хроническим дефицитом церебрального ДА происходят существенные нарушения эндотелийзависимых

<sup>1</sup>Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: talanov@biph.kiev.ua (С. А. Таланов).

мых сосудистых реакций [3]. Это свидетельствует о том, что неспецифические изменения, связанные с возрастом, не являются главной причиной ухудшения функционального состояния эндотелия в случаях моделирования БП. Есть основания полагать, что основными причинами гибели ДА-эргических нейронов черной субстанции в условиях БП являются нарушение клеточного дыхания [4, 5] и развитие оксидативного стресса [6, 7]. Очевидно, что подобные сдвиги при ДА-дефицитных состояниях будут наблюдаться и в тканях сердечно-сосудистой системы, в том числе и в гладких мышцах (ГМ) сосудистых клеток.

В настоящей работе мы исследовали возможность коррекции патологически измененных хемо- и механоиндуцированных сосудистых реакций у животных с хроническим дефицитом нигро-стриатного ДА с помощью препарата коэнзима  $Q_{10}$ . Последний, как известно, является компонентом дыхательной цепи митохондрий и обладает антиоксидантными свойствами.

## МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на изолированных препаратах грудного отдела аорты и воротной вены шести-семимесячных крыс линии Вистар–Киото. Были выполнены три серии экспериментов. Первая группа животных ( $n = 7$ ) служила контролем. Вторая группа ( $n = 7$ ) включала в себя крыс с моделью гемипаркинсонизма [3], т. е. животных с хроническим (три-четыре месяца) дефицитом нигро-стриатного ДА. Третью группу ( $n = 6$ ) составили животные с хроническим дефицитом ДА, которые в течение 30 дней перед экспериментами по исследованию сосудистых реакций получали ежедневно с пищей по 10 мг/кг коэнзима  $Q_{10}$ .

Аорту нарезали на сегменты шириной 2.0–2.5 мм и массой 2–3 г; плоскости разрезов ориентировали с учетом циркулярной ориентации её гладкомышечного слоя. Препарат растягивали с силой 10–15 мН; усилие растяжения контролировали с использованием механотронного датчика. Фоновая активация сосудистых ГМ достигалась путем добавления в буферный перфузионный раствор норадреналина (НА,  $10^{-5}$  М; «Sigma», США). Амплитуду расслабления сосудистых ГМ при действии ацетилхолина йодида (АХ,  $10^{-6}$  М; «Sigma», США) или нитропруссиды натрия (НП,  $10^{-4}$  М; «Sigma», США) нормировали относительно величины усилия, обу-

словленного НА-индуцированным сокращением.

Полоски стенки воротной вены подвергали исходному натяжению силой 2.0–2.5 мН, после чего препараты «вработывались» на протяжении 30 мин для получения устойчивого фонового состояния. Затем полоску дозированно растягивали, подвешивая грузики и создавая усилия 14 мН, и регистрировали изменения амплитуды фазных сокращений для получения зависимости длина – сила сокращения ГМ. Одновременно измеряли длину препарата и рассчитывали жесткость сосудистой стенки, т. е. отношение прироста силы сокращения к изменению длины сосудистого препарата при его растяжении.

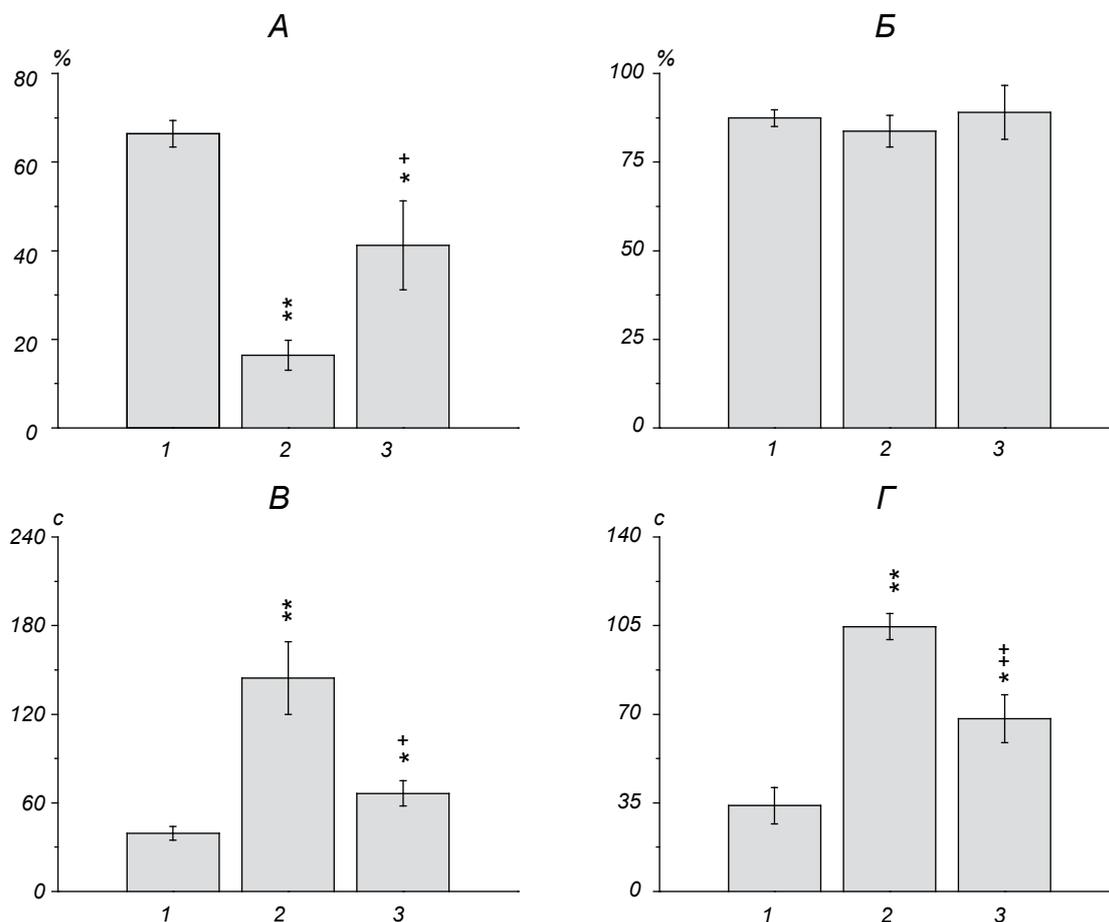
Хронический дефицит ДА индуцировали путем разрушения ДА-эргических нейронов компактной части черной субстанции левого полушария. Деструкция вызывалась инъекцией 8 мкг селективного нейротоксина 6-гидроксидофамина в левый латеральный восходящий пучок переднего мозга. В эксперимент брали только животных с существенной (более 90 %) дегенерацией ДА-эргической системы левого полушария. Методика односторонней деструкции ДА-синтезирующих клеток и определения степени односторонней дегенерации нигро-стриатной ДА-эргической системы была описана нами ранее [8].

Результаты обрабатывали с использованием стандартных приемов вариационной статистики, применяя программное обеспечение «Origin 7» («Microcal Software», США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

*Грудной отдел аорты.* Предварительно активированные в результате действия НА сосудистые препараты аорты крыс контрольной группы отвечали на аппликации АХ и НП типичными реакциями расслабления. Амплитуда расслабления в условиях действия АХ достигала в среднем  $66.4 \pm 3.0$ , а действия НП –  $87.4 \pm 2.4$  % базального уровня НА-индуцированного сокращения. При этом средние латентные периоды реакций составляли  $39.3 \pm 4.6$  и  $33.9 \pm 7.2$  с соответственно (рис. 1, 1).

У животных с хроническим дефицитом церебрального ДА существенное расслабление ГМ стенки аорты в ответ на действие АХ регистрировалось только в 60 % случаев. В остальных случаях либо заметного расслабления не развивалось, либо наблюдался вазоконстрикторный ответ. На



**Р и с. 1.** Нормированная амплитуда расслабления (% *A, Б*) и латентный период реакций (с *В, Г*) гладких мышц аорты при аппликациях ацетилхолина (*A, Б*) и нитропруссид натрия (*Б, Г*).

1 – у контрольных животных; 2 – у животных с хроническим дефицитом nigro-стриатного дофамина; 3 – у животных с дефицитом дофамина, которые на протяжении 30 суток перед экспериментом получали с пищей коэнзим Q<sub>10</sub>. \**P* < 0.05, \*\**P* < 0.001 относительно контроля; +*P* < 0.05, ++*P* < 0.01 относительно второй группы.

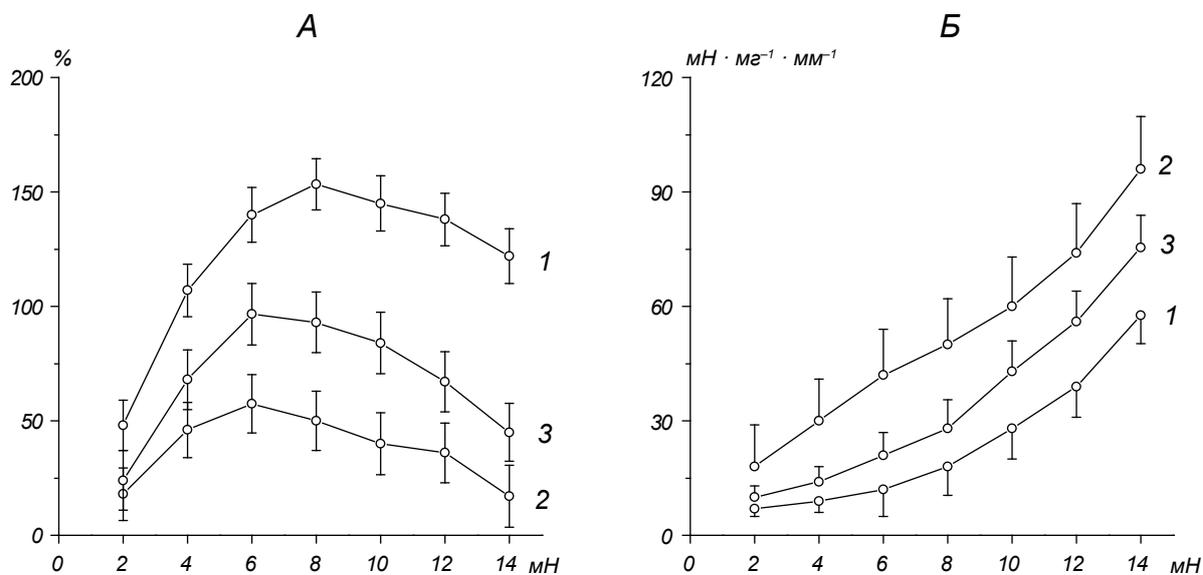
**Р и с. 1.** Нормована амплітуда розслаблення (% *A, Б*) та латентний період реакцій (с *В, Г*) гладеньких м'язів аорти при аплікаціях ацетилхоліну (*A, Б*) і нітропруссиду натрію (*Б, Г*).

апликации же НП ГМ аорты всегда реагировали расслаблением. При этом амплитуда расслабления, вызванного действием АХ, составляла в среднем всего  $16.4 \pm 3.4$  % (*P* < 0.001 относительно контроля). Интенсивность расслабления, обусловленного аппликацией НП, в среднем равнялась  $83.7 \pm 4.5$  % (*P* > 0.05), т. е. мало отличалась от контрольных значений. Средние латентные периоды указанных реакций в описываемой группе были существенно продолжительнее, чем в контроле, и составляли  $144.6 \pm 24.6$  (*P* < 0.001) и  $104.6 \pm 5.1$  с (*P* < 0.001) соответственно (рис. 1, 2).

У животных третьей группы амплитуда расслабления ГМ аорты под влиянием АХ составляла в

среднем  $41.2 \pm 10.0$  % (*P* < 0.05 относительно первой и второй групп), а при действии НП –  $89.0 \pm 7.6$  % контрольных величин (*P* > 0.05 относительно первой и второй групп). Средние латентные периоды этих реакций равнялись  $66.4 \pm 8.6$  (*P* < 0.05 относительно первой и второй групп) и  $68.2 \pm 9.4$  с (*P* < 0.05 относительно контроля и *P* < 0.01 относительно второй группы) соответственно (рис. 1, 3).

*Воротная вена.* У животных первой (контрольной) группы дополнительное растяжение препаратов воротной вены приводило к увеличению амплитуды фазных сокращений. Наибольших значений этот прирост достигал при силе дополнительно-го растяжения 8 мН, составляя в данном случае в



**Р и с. 2.** Изменения амплитуды фазных сокращений (А) и жесткости (Б) сосудистых препаратов воротной вены крыс при растяжении.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

**Р и с. 2.** Зміни амплітуди фазних скорочень (А) і жорсткості (Б) судинних препаратів ворітної вени щурів при розтягуванні.

среднем  $153.4 \pm 11.2$  % относительно исходного значения. Дальнейшее растяжение сосудистых препаратов сопровождалось уменьшением силы их сокращения (рис. 2, А, 1).

У крыс второй группы прирост силы фазных сокращений ГМ воротной вены был достоверно меньшим, причем максимальных значений он достигал при меньшей силе дополнительного растяжения – 6 мН, составляя  $57.5 \pm 12.7$  % исходного значения ( $P < 0.001$  относительно контроля). Дальнейшее увеличение силы растяжения также сопровождалось уменьшением прироста амплитуды фазных сокращений ГМ (рис. 2, А, 2).

У животных третьей группы наблюдалась более интенсивная фазная сократительная активность ГМ воротной вены по сравнению с подобными реакциями у крыс второй группы. Максимальный прирост амплитуды сокращений при силе дополнительной нагрузки 6 мН составлял  $96.6 \pm 12.4$  % контрольного значения ( $P < 0.01$  относительно контроля и  $P < 0.05$  относительно второй группы; рис. 2, А, 3).

Уменьшение прироста амплитуды фазных сокращений у крыс с хроническим дефицитом ДА сопровождалось увеличением жесткости сосудистой стенки. Максимальное значение жесткости при силе растяжения 14 мН составляло в первой–третьей группах животных соответственно  $57.7 \pm 7.5$ ,  $96.0 \pm 13.8$  ( $P < 0.05$  относительно контроля) и  $75.4 \pm$

$\pm 8.5$  ( $P > 0.05$  относительно контроля и второй группы; рис. 2, Б)  $\text{мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1}$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что у крыс с хроническим дефицитом nigro-стриатного ДА амплитуда расслабления ГМ стенки аорты в ответ на действие эндотелийзависимого вазодилатора АХ была меньше почти в четыре раза, чем в контроле, а латентный период реакции в 3.5 раза превышал таковой у контрольных животных. В то же время расслабление, вызванное аппликацией эндотелийнезависимого вазодилатора НП, сохраняло почти неизменную амплитуду, но при этом латентный период ответов на действие данного агента также примерно втрое превышал контроль. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у крыс с недостаточностью ДА ГМ сосудистой стенки в принципе не теряют способности к расслаблению; резко нарушаются только реакции, реализующиеся с участием эндотелия. Кроме того, у животных с деструкцией nigro-стриатной ДА-эргической системы сократительные ответы ГМ воротной вены достигали максимального значения при меньшей силе растяжения. Прирост амплитуды фазных сокращений в данном случае уменьшался в

2.5 раза, что являлось прямым следствием увеличения жесткости сосудистой стенки.

Одной из вероятных причин нарушения характеристик сосудистых реакций представляется влияние продуктов оксидативного стресса. Известно, что свободные радикалы играют существенную роль в патогенезе БП. При этом активируется перекисное окисление липидов и снижается активность ферментов антиоксидантной системы [7, 9, 10]. Показано, что свободные радикалы оказывают повреждающее влияние на эндотелиоциты и изменяют активность их ферментов [11, 12]. Это может служить причиной существенных изменений сократительных реакций сосудистых ГМ. Согласно нашим собственным (еще не опубликованным полностью) данным, у крыс с повреждением ДА-эргической системы мозга, индуцированным 6-гидроксидофамином, уровень реактивных форм кислорода в тканях сердечно-сосудистой системы увеличивается. Таким образом, в число причин, обуславливающих изменения вазомоторных реакций в наших экспериментах, по всей видимости, входит и оксидативный стресс.

У крыс, в течение месяца получавших с пищей препарат коэнзима  $Q_{10}$ , измененные при хроническом дефиците ДА хемо- и механоиндуцированные сократительные реакции сосудистых ГМ частично нормализовались. Почти вдвое возросла амплитуда эндотелийзависимого расслабления ГМ стенки аорты по сравнению с наблюдаемой у крыс второй группы. В заметной степени приближался к контролю и латентный период реакции. Кроме того, уменьшалась жесткость сосудистой стенки воротной вены, и частично восстанавливались её активные миогенные реакции. Все это свидетельствует о положительном влиянии коэнзима  $Q_{10}$  на сократительные сосудистые реакции, измененные вследствие хронической недостаточности церебрального ДА.

Известно, что убихинон, являющийся коферментом оксидо-редуктазных ферментных систем электронотранспортной цепи митохондрий, играет ключевую роль в жизнедеятельности клетки. Нарушение работы упомянутой цепи сопровождается увеличением выхода в цитозоль реактивных форм кислорода. Другое важное свойство данного коэнзима – он функционирует как эффективный антиоксидант, образуя буферную редокс-систему убихинол – убихинон [13]. Восстановленная форма убихинона – убихинол – также является активным антиоксидантом, причем в клетках до 70 % убихинона может находиться в восстановленной форме [14]. При этом убихинол представляет собой на два-три порядка более эффективный антиоксидант, чем убихинон. Кроме того, убихинол участвует в продуцировании восстановленных форм  $\alpha$ -токоферола и вовлечен в регуляцию, обеспечивающую нормальное структурно-функциональное состояние клеточных мембран [14]. Именно антиоксидантные свойства упомянутого коэнзима, по всей видимости, и являются важнейшим фактором, обеспечивающим позитивное действие на патологически измененные сосудистые реакции у крыс в наших экспериментах.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при хроническом дефиците nigro-стриатного ДА функциональное состояние эндотелия артерий и вен существенно нарушается; в результате происходит изменение активных миогенных сосудистых реакций и увеличивается жесткость сосудистой стенки. Коэнзим  $Q_{10}$  благодаря своим антиоксидантным свойствам может существенно восстанавливать эндотелийзависимые вазомоторные реакции, измененные под действием патологических факторов БП.

С. О. Таланов<sup>1</sup>, М. М. Ткаченко<sup>1</sup>, О. В. Базилюк<sup>1</sup>,  
Л. Г. Степаненко<sup>1</sup>, В. Ф. Сагач<sup>1</sup>

ХЕМО- ТА МЕХАНОІНДУКОВАНІ РЕАКЦІЇ СУДИННИХ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ У ЩУРІВ З ХРОНІЧНИМ ДЕФІЦИТОМ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ДОФАМІНУ: ВПЛИВ КОЕНЗИМУ  $Q_{10}$

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

#### Резюме

У досліджах на ізольованих препаратах сегментів аорти та воротної вени показано, що у щурів з деструкцією nigro-стриатної дофамінергічної системи лівої півкулі (модель геміпаркінсонізму) пригнічуються ендотелійзалежні реакції судинних гладеньких м'язів (ГМ). Так, амплітуда розслаблення ГМ стінки грудного відділу аорти під дією ендотелійзалежного вазодилатора ацетилхоліну йодиду у таких тварин була в чотири рази менше, а латентний період реакцій – у 3.5 рази більше, ніж у контролі. Амплітуда ж розслаблення судинних ГМ при аплікації ендотелійнезалежного вазодилатора нітропрусиду натрію практично не змінювалась. Крім того, у 2.5 рази зменшувався приріст амплітуди фазних скорочень ГМ воротної вени, викликаних попереднім розтягненням, причому цей приріст сягав максимуму при меншому додатковому навантаженні, а жорсткість

судинної стінки збільшувалась. У тварин, які протягом місяця отримували з їжею препарат коензиму Q<sub>10</sub> (10 мг/кг), скоротливі реакції судинних ГМ частково відновлювалися: амплітуда ендотелійзалежного розслаблення аорти зростала, латентний період даної реакції зменшувався, приріст амплітуди фазних скорочень ворітної вени, зумовлених розтягненням, збільшувався, а жорсткість судинної стінки знижувалась. Зроблено висновок, що в умовах хронічного дефіциту нігро-стріатного дофаміну функціональний стан ендотелію погіршується і реактивність судин змінюється. Вірогідно, однією з основних причин цих змін є оксидативний стрес. Коензим Q<sub>10</sub> істотно нормалізує змінені судинні реакції, очевидно, у значній мірі завдяки його антиоксидантним властивостям.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Е. А. Алимova, В. Л. Голубев, "Вегетативные нарушения при паркинсонизме", *Журн. невропатологии и психиатрии*, **92**, № 5, 48-52 (1992).
2. В. Л. Голубев, Я. И. Левин, А. М. Вейн, *Болезнь Паркинсона и синдром паркинсонизма*, Медпресс, Москва (2000).
3. С. О. Таланов, М. М. Ткаченко, О. В. Базілюк та ін., "Вплив еналаприлу на вазомоторні реакції у щурів з хронічним дефіцитом дофаміну в мезенцефало-стріатній системі", *Фізіол. журн.*, **53**, № 3, 16-22 (2007).
4. V. M. Mann, J. M. Cooper, D. Krige, et al., "Brain, skeletal muscle and platelet homogenate mitochondrial function in Parkinson's disease," *Brain*, **115**, Part 2, 333-342 (1992).
5. A. H. Schapira, M. Gu, J. W. Taanman, et al., "Mitochondria in the etiology and pathogenesis of Parkinson's disease," *Ann. Neurol.*, **44**, No. 3, Suppl. 1, S89-S98 (1998).
6. P. Jenner and C. W. Olanow, "Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease," *Neurology*, **47**, No. 6, Suppl. 3, S161-S170 (1996).
7. P. Jenner, "Oxidative mechanisms in nigral cell death in Parkinson's disease," *Mov. Disord.*, **13**, Suppl. 1, 24-34 (1998).
8. С. А. Таланов, Н. Н. Олешко, М. Н. Ткаченко, В. Ф. Сагач, "Фармакопротекторные влияния на различные звенья механизма дегенерации nigro-стриатных дофаминергических нейронов, вызванной действием 6-гидроксидофаминна", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **38**, № 2, 150-157 (2006).
9. A. H. Tsang and K. K. Chung, "Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease," *Biochim. Biophys. Acta*, **30** (2008).
10. M. E. Götz, G. König, P. Riederer, and M. B. Youdim, "Oxidative stress: free radical production in neural degeneration," *Pharm. Theor.*, **63**, No. 1, 37-122 (1994).
11. Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньшикова, *Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологические аспекты*, Наука/Интерпериодика, Москва (2001).
12. М. М. Ткаченко, В. Ф. Сагач, А. В. Коцюруба та ін., "Ендотелійзалежні скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів і вміст вільних радикалів кисню у щурів за умов старіння", *Фізіол. журн.*, **48**, № 4, 3-13 (2002).
13. Т. П. Побезимова, В. К. Войников, "Биохимические и физиологические аспекты функционирования убихинона", *Биол. мембраны*, **16**, № 5, 485-491 (1999).
14. B. Frei, M. C. Kim, and B. N. Ames, "Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, No. 12, 4879-