

Гошовська Ю.В.

Участь мітохондріальних роз'єднувальних білків в механізмах захисту міокарда від окисного стресу

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; pokutt@gmail.com

Роз'єднувальні білки (від англ. uncoupling proteins, UCP), що містяться у внутрішній мембрані мітохондрій і є конкурентами АТФ-синтази для протонів, важливі не лише у зв'язку з процесом термогенезу у тканинах бурого жиру. Виявлення гомологів UCP у мітохондріях кардіоміоцитів і демонстрація їх протонпровідних властивостей дають змогу говорити про регуляторне значення цих білків для мембранного потенціалу і, відповідно, для синтезу АТФ. Однак вміст UCP у кардіоміоцитах на два порядки менший, ніж у бурому жирі. Тому так зване „м'яке” роз'єднання окисного фосфорилування, що спостерігається при активації серцевих ізоформ UCP може запобігати надмірній продукції активних форм кисню дихальним ланцюгом. В огляді наведені власні і літературні дані, що підтверджують захисну роль активації UCP в попередженні надмірної продукції активних форм кисню за умов окисного стресу при ішемії міокарда. Обговорюється участь UCP в ендогенних механізмах кардіопротекції, що викликаються ішемічним прекодиціюванням.

Ключові слова: роз'єднувальні білки, окисний стрес, міокард, ішемія, мітохондрій, прекодиціювання.

ВСТУП

Мітохондрії – це основні органели, які продукують АТФ через процес, що спряжений із споживанням кисню і відомий як окисне фосфорилування. Створений під час дихання протонний градієнт може бути „розсіяний” завдяки активності роз'єднувальних білків (від англ. uncoupling proteins, UCP), які локалізовані у внутрішній мембрані мітохондрій і регулюють функціонування електронно-транспортного ланцюга [1]. Необхідність у роз'єднанні окисного фосфорилування виникає зокрема у разі відсутності субстрату для роботи АТФ-синтази, а також кисню як акцептора електронів. За таких умов є ймовірність утворення гідроксильного та супероксидного радикалів у комплексах I і III мітохондрій [2]. Велика кількість активних форм кисню (АФК) разом зі збільшенням вмісту внутрішньоміто-

хондріального Ca^{2+} створюють умови для відкриття мітохондріальних пор із наступною активацією апоптозу/некрозу [3]. Саме з функцією запобігання надмірній продукції АФК і пов'язують важливе значення UCP в умовах розвитку окисного стресу [1,4,5].

Активні форми кисню як індуктори окисного стресу при старінні та ішемії–реперфузії. Інтенсифікація окисного метаболізму внаслідок надмірної продукції в клітині АФК лежить в основі багатьох патологій та процесу старіння. Термін «активні форми кисню» об'єднує всю різноманітність продуктів метаболізму молекулярного кисню. Попередником більшості АФК є супероксиданіон ($\cdot\text{O}_2^-$), який відіграє роль медіатора в оксидативних ланцюгових реакціях. Дисмутація $\cdot\text{O}_2^-$ (спонтанна або за допомогою ферменту дисмутази) супроводжується утворенням пероксиду водню (H_2O_2), який у свою

чергу може повністю відновитися до води або вступити в реакцію Фентона і за наявності іонів заліза чи міді утворювати реактивні гідроксильні радикали ($\cdot\text{OH}$) [6].

У клітині $\cdot\text{O}_2^-$ може утворюватися ферментативним шляхом внаслідок активності НАДФН-оксидази [7], цитохром-Р450-залежних оксигеназ [8] і ксантинооксидази [9]. Основним неферментативним джерелом вільних радикалів кисню в клітинах є дихальний ланцюг мітохондрій, який містить кілька редокс-центрів (флавін, FeS-кластери тощо), які здатні переносити один електрон до кисню з утворенням $\cdot\text{O}_2^-$. У мітохондріях вільні радикали синтезуються зокрема в комплексі I та III [2]. Вважається, що на продукцію АФК мітохондріями в нормі використовується близько 2 % спожитого кисню, однак ця цифра може значно збільшуватися за патологічних умов [10].

Надмірна кількість АФК в клітині викликає пошкодження таких клітинних структур, як білки, ліпіди, ДНК тощо, окиснюючи їх і змінюючи таким чином їхні фізичні властивості та функції. Поряд з цим сьогодні ні в кого не викликає сумніву постулат про сигнальне значення АФК [11], оскільки їх продукція відбувається в нормі. Так, вони виступають внутрішньо- та міжклітинними медіаторами передачі сигналів [12,13], активуючи тирозинкінази, мітогенактивовані протейнінази. Супероксидний радикал, перекис водню та пероксинітрит, який може утворитися при одночасній інтенсивній генерації супероксид-аніона і оксиду азоту (NO), регулюють транспорт кальцію в мітохондріях і збільшують його накопичення мітохондріями [14] тощо. Крім того, АФК опосередковують активацію певних транскрипційних факторів, зокрема AP-1 і NF- κ B, що запускають експресію певних генів [15]. Відомо також, що АФК є одними з медіаторів ішемічного прекодиціювання [16,17]. Однак розбалансування роботи про- та антиоксидантних систем призводить до того що, велика кількість АФК індукує пошкодження клітини і є підґрунтям

численних захворювань, включаючи серцеву недостатність, діабет, неопластичні процеси, хворобу Альцгеймера, Паркінсона тощо. Саме окисний стрес лежить в основі розвитку ішемічної хвороби серця, гіпертензії, атеросклерозу, а також порушень насосної функції серця з віком.

Збільшення продукції АФК супроводжується дисфункцією мітохондрій при старінні. Вважається, що при цьому порушується функція мітохондрій серця інтерфібрилярної популяції (ІФ) [18], які, на відміну від мітохондрій субсарколемальної популяції (СС), локалізовані безпосередньо між міофібрилами скоротливого апарату кардіоміоцитів. З'ясовано, що з віком у щурів знижується чисельність популяції ІФ, знижується швидкість окисного фосфорилування та активність комплексів III і IV, збільшується продукція супероксидного аніона комплексом III, а також знижуються процеси окиснення жирних кислот порівняно з СС мітохондрій. Таким чином, дефекти окисного метаболізму інтерфібрилярних мітохондрій погіршують роботу серця при старінні.

Ішемія міокарда є відомим пошкоджувальним агентом мітохондрій не лише у дорослих, а й у старих тварин. Однак, на відміну від селективного ураження ІФ популяції, при старінні ішемія індукує пошкодження і в мітохондріях СС фракції, а також посилює продукцію АФК в комплексі III мітохондрій і, як наслідок, інтенсифікується вільнорадикальне ушкодження комплексу IV [19]. АФК вважаються причиною інтенсивнішого пошкодження кардіоміоцитів при ішемії старіючого серця, тобто втрати толерантності до ішемії [18,20]. Внаслідок активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) змінюються властивості мітохондріальних мембран: порушується їх цілісність, збільшується проникність для іонів кальцію, що призводить до накопичення цих іонів у матриксі мітохондрій і активації неселективних мегаканалів, відомих як мітохондріальні пори (МП). Ця подія може

мати наслідком активацію апоптозу/некрозу. Тому зниження продукції АФК є важливою мішенню запобігання розвитку окисного стресу та дисфункції серцево-судинної системи як при старінні, так і при ішемії міокарда.

Роз'єднувальні білки опосередковують механізми протонного витоку.

З цілої низки роз'єднувальних білків найкраще вивчений UCP1 або білок бурого жиру термогенін, амінокислотна послідовність якого була повністю розшифрована у 1986 р. [21]. Вивільнення тепла, як протонофорна функція термогеніну, запобігає накопиченню енергії у вигляді жирів [22], завдяки чому його фізіологічне значення пов'язують з регуляцією обміну речовин. Перетворення енергії електрохімічного протонного градієнта у тепло, яке відбувається за умов активації UCP1, лежить в основі реакцій адаптивного термогенезу. Особливого значення цей процес набуває у тварин, що впадають у сплячку, оскільки вміст білка UCP1 становить 10 % від усіх білків мітохондріальних мембран [23].

У 1997 р. дві групи дослідників на чолі з Fleury [24] та Gimeno [25] незалежно одна від одної виявили та описали UCP2 – білок з дуже високою гомологією амінокислотної послідовності до UCP1. Важливою характеристикою UCP2 було те, що він має значне тканинне поширення й експресується в нирках, печінці, підшлунковій залозі, в серці [4,26,27] тощо. Згодом у ссавців було виявлено UCP3 в скелетних м'язах [28,29] і у серці [30,31].

На молекулярному рівні функція UCP полягає в транспорті протонів з міжмембранного простору в матрикс мітохондрій. Вважається, що UCP1 може каталізувати протонний витік двома способами: а) безпосередньо через білкову молекулу; б) транспортувати жирні кислоти за допомогою механізму «фліп-флоп» [32–34]. Згідно з загальнопринятою моделлю, UCP виступають посередником, який здійснює трансмембранне перенесення аніонів жирних кислот. Це має принципове

значення для їх роз'єднувальної дії, оскільки аніонні форми жирних кислот затримуються на поверхні розділення мембрана/вода, орієнтуючись карбоксильною групою в бік води, а «жирним» хвостом – в бік ліпідів. Саме тому мембрани погано проникні для аніонів жирних кислот і легко проникні для їх нейтральних (протонованих) форм. На зовнішній ділянці внутрішньої мембрани мітохондрій аніони жирних кислот стають протонованими та повертаються в матрикс у нейтральній формі, переносячи при цьому йони водню. Цей етап супроводжується зменшенням градієнта протонів, роз'єднанням окисного фосфорилування і виділенням тепла [35]. Таким чином, згідно з гіпотезою «циклічного оберту жирних кислот» або «фліп-флопу», жирні кислоти відіграють роль циклічних протонофорів. Іншою важливою характеристикою роз'єднання за допомогою жирних кислот є відсутність спеціального механізму для припинення роз'єднувального ефекту. Роз'єднання припиняється одразу ж, як тільки швидкість надходження жирних кислот в мітохондрію стане меншою за швидкість їх окиснення.

Здатність індукувати протонний витік була продемонстрована для обох гомологів UCP1 [36]. Виявлено, що UCP2 і UCP3 транспортують аніони жирних кислот в нуклеотидчутливих реакціях [33,37]. Однак вони наявні у досить низьких концентраціях (близько 0,1% від усіх білків мітохондріальних мембран) і переносять протони, коли вони активовані [38], тому їхній внесок у термогенез, на відміну від UCP1, функціонування якого відбувається постійно, не буде вагомим. Більше того, значне тканинне поширення UCP2 і UCP3, зокрема наявність їх у серці, вказує на функції, не пов'язані з утворенням тепла [1,34,39]. Одним з найкращих пояснень існування явища протонного витоку є гіпотеза академіка Скулачова [40] про зменшення продукції АФК електронно-транспортним ланцюгом мітохондрій і запобігання таким чином швидкому старінню.

UCP запобігають надмірній продукції АФК. Гіпотеза про те, що UCP2 та UCP3 беруть участь у послабленні продукції вільних радикалів, дискутується, однак знаходить все більше експериментальних підтверджень. Вона базується на тому, що UCP здатні активуватися АФК або продуктами ПОЛ. Так, позитивним регулятором активності UCP є супероксидний аніон [35,41–43], а також продукти ПОЛ, наприклад 4-гідрокси-транс-2-ноненал [41,43], які стимулюють протонний витік. Супероксид вивільняє іони заліза з фермента аконітази, що призводить до каскаду ПОЛ і утворення гідроксиноненалу, який ковалентно зв'язується з UCP, активуючи їх протонну провідність. Таким чином, UCP здійснюють помірне роз'єднання у відповідь на збільшення продукції супероксиду та інших окисдантів, що спричинює зменшення протонрушійної сили і зниження генерації супероксиду за принципом зворотного зв'язку. Такий захист може бути актуальним за умов надмірної продукції АФК при старінні, але ціною тому є незначне посилення дихання, тобто інтенсифікація окиснення речовин і, як результат, збільшення споживання кисню мітохондріями. І дійсно, було виявлено підвищення експресії генів UCP2 і UCP3 в серці старих щурів [44]. Це дає підстави вважати, що UCP залучені в механізм інтенсивнішої протонної провідності мітохондріальних мембран при старінні. На користь цього свідчить загальновідомий факт про підвищення з віком концентрації жирних кислот у плазмі [45] і наявність даних про кореляцію між рівнем UCP2 і UCP3 у серці та вмістом жирних кислот у плазмі [46]. Активація UCP з віком може пояснити зростання кількості спожитого кисню міокардом старих тварин і знижений мембранний потенціал мітохондрій серця [44,47,48].

Участь UCP у запобіганні надмірної продукції АФК доведена експериментами з нокаутними тваринами. Так, вміст вільних радикалів кисню збільшується в мітохондрі-

ях м'язів UCP3^{-/-} [49], первинних міоцитах UCP3^{-/-} [50] і мітохондріях печінки UCP2^{-/-} тварин [51]. У нокаутних за геном UCP3 м'язових мітохондріях [42] та ниркових мітохондріях UCP2^{-/-} мишей [52] відсутня активація протонної провідності UCP супероксидом. З іншого боку, надекспресія UCP2 в ракових клітинах кишечника лінії НСТ116 та клітинах аденокарцином кишечника попереджає утворення АФК, пригнічує апоптоз і збільшує хіміорезистентність цих клітин [53,54], що підтверджує їх участь у синтезі вільних радикалів кисню мітохондріями.

Важливість активації UCP2 для серцево-судинної системи за умов окисного стресу була показана на культурі судинних гладеньком'язових, ендотеліальних клітин і моноцитів [55], де надекспресія UCP2 за допомогою трансфекції аденовірусними векторами запобігала надмірній продукції АФК, активації NF-κB, експресії інтегринів і адгезивних молекул за дії проатеросклеротичних агентів (високі концентрації глюкози, ангіотензин II, ліолева кислота). Крім того, зниження експресії UCP2 і UCP3 у серці мишей при серцевій недостатності, індукованій доксорубіцином, супроводжується інтенсивною генерацією АФК [56], що вказує на участь UCP у регуляції окисного метаболізму кардіомиоцитів.

Активація UCP при ішемії–реперфузії міокарда. При ішемії першими страждають такі киснезалежні елементи клітини, як мітохондрії, тому велике значення під час реперфузії має швидке відновлення продукції енергії цими органелами. Реалізація цього завдання здійснюється через активацію ендогенних механізмів захисту клітини. Існують дані про кардіопротекторні ефекти часткового роз'єднання окисного фосфорилування. Зокрема, було показано, що СССР (карбоніл цианід *m*-хлорофенілгідразон), FCCP (карбоніл цианід 4-(трифлуорометокси)фенілгідразон), 2,4-динітрофенол – класичні протоннофори, що широко використовуються

в експериментах для роз'єднання окисного фосфорилування, в певних, низьких концентраціях здійснюють протекторні ефекти на кардіоміоцити [57–59]. Важливо, що помірне або так зване „м'яке” роз'єднання полягає в незначному збільшенні протонного витоку, при якому швидкість дихання зростає, однак протонрушійна сила знижується не критично, і синтез АТФ залишається можливим. Це основна відмінність помірного роз'єднання від „повного”, при якому синтез АТФ відсутній, а швидкість дихання максимальна. Саме на цих міркуваннях і базуються уявлення про протекторні властивості UCP [1,4,5,32,60,51]. Велика кількість АФК разом з збільшенням внутрімітохондріального Ca^{2+} створюють умови для відкриття мітохондріальних пор із наступною активацією апоптозу/некрозу [3]. Тому доцільним за цих умов вважається роз'єднання мітохондрій [88].

Відомо, що після нетривалого ішемічного епізоду стимулюється захисна генетична програма, яка включає активацію так званих протекторних генів, а саме білків теплового шоку (від англ. heat shock proteins, HSP 27, 40, 70, 86, 105), факторів росту (фактор росту судин, нейротрофний фактор), інгібітор серинових протеїназ з антиапоптотичним властивостями (інгібітор 1 активатора плазміногену) тощо [61]. Після тривалої коронарооклюзії у серці щурів підвищується експресія ремодельовальних протеїнів (натрійуретичного пептиду, фібронектину, ламініну, фібриліну, колагенів I і III типу) та білків, асоційованих з пошкодженням (білки комплементу, адгезивні протеїни тощо) [62] і, ймовірно, інших ще не з'ясованих генів.

У відповідь на посилену продукцію АФК активуються такі ферменти системи антиоксидантного захисту як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза. Було виявлено, що активність СОД, зокрема за умов дії гіпобаричної гіпоксії, збільшується тільки через 6 годин, коли АФК вже активно генеруються, тоді як збільшення мРНК та білка UCP3, відбувається вже через 1–2 год гіпобаричної гіпоксії

[63]. Ці дані вказують на те, що первинною стратегією мітохондрії в боротьбі з окисним стресом є інгібування продукції супероксидного радикала за допомогою активації протонного витоку надекспресією UCP3, в той час як активація СОД та інших ферментів може бути віддаленою подією антиоксидантного захисту.

На моделі ішемії ізольованого за методом Лангендорфа серця щурів нами було виявлено посилення експресії генів UCP2 і UCP3 протягом усієї реперфузії [64]. Ці результати корелюють з даними, отриманими Safari та співавт. [65] про підвищення вмісту білків UCP2 і UCP3 у тканинах ішемізованого серця. Однак у старих тварин ішемія не викликала стимуляцію експресії генів UCP, вихідний рівень яких підвищується порівняно з дорослими тваринами [64]. Застосування блокатора активності UCP геніпіну [66] значно посилювало реперфузійні порушення функції серця старих щурів [67], що нашо вухе на думку про необхідність активації UCP безпосередньо під час реперфузії.

Окремо слід розглянути питання про посилення експресії UCP за умов недостатчі кисню. Було показано, що генетична відсутність UCP3 в первинних міоцитах супроводжується генерацією значно більшої кількості вільних радикалів кисню, індукованих гіпоксією [68]. Це вказує на адаптаційну роль UCP3 у антиоксидантному захисті клітин скелетних м'язів. Виявлено, що киснечутливий транскрипційний фактор ATF-1 (від англ. activating transcriptional factor 1), який фосфорилується при гіпоксії, відіграє роль у індукованій гіпоксією експресії UCP3, доказом чого є зниження індукції UCP3 у відповідь на гіпоксію при генетичному «замовчуванні» ATF-1 [68]. Про один зі споріднених білків до ATF-1 – ATF-3 (від англ. activating transcription factor 3 або liver regeneration factor) – відомо, що він має важливе значення для регуляції росту, контролюючи експресію «пізніх» генів, тих, що беруть участь в синтезі ДНК. ATF-3 пригнічує апоптоз, індукований доксорубі-

цином [69], що є важливим для пом'якшення ішемічного ушкодження і має терапевтичний аспект у лікуванні серцевої недостатності [70]. Можливо, ATF-1 виконує аналогічну антиапоптотичну функцію через активацію експресії UCP3.

Основним механізмом, який опосередковує підвищення експресії UCP при гіпоксії, може виступати пероксид водню, який має здатність посилювати зв'язування транскрипційного фактора NFκB з відповідними ділянками ДНК [71], що посилює експресію UCP2 [72] та, можливо, UCP3 [63]. Було показано, що пероксид водню індукує експресію UCP2 в моноцитах – попередниках макрофагів [73].

Таким чином, фактори, що регулюють експресію генів UCP, дещо різні для UCP2 та UCP3. Спільними регуляторами для обох генів виступають жирні кислоти та стимули гіпоксичного характеру, що, ймовірно, пов'язано з адаптацією клітини до дефіциту кисню та її антиоксидантним захистом.

Якщо гіпоксія індукує експресію UCP, то можна припустити, що в цьому процесі бере участь інший відомий транскрипційний фактор HIF-1α (від англ. hypoxia induced factor), який опосередковує адаптивну відповідь на гіпоксію, впливаючи на транскрипцію численних індукованих гіпоксією генів. Є дані, які заперечують це припущення: стимуляція експресії HIF-1α хлоридом кобальту не призводила до індукції експресії UCP3 [68], незважаючи на те, що ATF-1 взаємодіє з HIF-1α і зв'язується з ним [74]. Однак автори не вивчали, як змінюється експресія ATF-1 під дією хлориду кобальту. Найімовірніше, вона не змінюється, а для збільшення експресії UCP3 потрібне одночасне підвищення як HIF-1α, так і ATF-1, що спостерігається за умов гіпоксії, тому зроблені авторами висновки варто перевірити експериментально.

Важливою є не лише активація UCP на рівні експресії генів, але й як структурно-функціонального компонента мембрани. Вивчення ендогенних адаптивних і кардіопротективних механізмів, які б допомагали серцю витри-

мати потужну пошкоджувальну дію ішемії, є предметом багатьох сучасних досліджень. За умов нестачі кисню в міокарді змінюється динаміка окисно-відновних процесів: на початковій стадії спостерігається універсальна первинна реакція мітохондрій – ефект „м'якого” роз'єднання окисного фосфорилування [75]. Очевидно, що в цей процес окрім інших механізмів задіяні й UCP. Власне, причиною гіршої реакції серця на ішемію – реперфузію на тлі введення геніпіну [67], може бути вимкнення механізму „м'якого” роз'єднання. Стає зрозумілим, що ініціація активності UCP за умов ішемії має протективне значення для функціонування серця. Підтверджують ці висновки результати, отримані Ozcan та співавт. [76], які виявили, що оклюзія лівої коронарної артерії у UCP3^{-/-} мишей супроводжувалась збільшенням зони інфаркту та частоти аритмій удвічі, зниженням вмісту АТФ і збільшенням продукції АФК порівняно з контрольними тваринами. Аналогічні результати було отримано в дослідженні Haines та співавт. [77], де за ішемії мозку у нокаутних за геном UCP2 мишей збільшується зона інфаркту та продукція запальних цитокінів. Таким чином, UCP відіграють роль своєрідних оптимізаторів енергетичного метаболізму і протекторів від пошкоджувальної дії ішемії – реперфузії.

UCP як ефектори ішемічного прекодиціювання. Програма виживання клітини, ініційована ішемічним прекодиціюванням (ІП), запускається короткими епізодами нелетальних ішемії і реалізується в більшості тканин та органів різних видів тварин, а також у людини [78]. Невід'ємною ознакою прекодиційованих тканин є здатність мітохондрій ефективно відновлювати свою АТФ-синтезувальну функцію після тривалої ішемії, а також значне зниження продукції АФК під час реоксигенації порівняно з непрекодиційованими мітохондріями [79].

Регуляторна програма клітини, яка запускає мітохондріальну адаптацію під час пре-

кондиціонування, окрім активації K^+ -АТФ-чутливих каналів, протеїнкіназ, запобігання перевантаження мітохондрій кальцієм, попередження утворення мітохондріальних пор тощо, включає також модуляцію експресії ядерних генів, що в свою чергу впливають на мітохондріальні функції. Показано, що у прекодиційованому серці індукується експресія активатора PPAR γ (PPAR γ co-activator 1 α), який стимулює експресію UCP [80]. Відповідно, UCP можуть бути однією з ланок механізму прекодиціонування. І, дійсно, було показано, що транскрипти генів UCP2 і UCP3, а також вміст білка UCP2 збільшувалися більш ніж удвічі під дією ІП серця *in vivo* [81]. Цей ефект відміннявся попереднім введенням антиоксиданта та антагоніста ІП – 2-меркаптопропіонілгліцину. З'ясувалося, що трьох циклів ішемії (5 хв) і реперфузій (5 хв) – класичної схеми ІП для моделі ізольованого серця – достатньо, щоб ініціювати збільшення експресії генів UCP2 і UCP3 у тканинах серця дорослих шурів [82]. Крім того кардіопротекторний ефект ішемічного прекодиціонування не спостерігається у нокаутних за геном UCP3 мишей [76]. Наразі, лише в кількох дослідженнях показано збільшення експресії генів UCP за умов ішемічного прекодиціонування і зв'язку цієї події з протекцією, а саме було виявлено збільшення вмісту мРНК UCP2 в мозку після ІП [83]. Liu та співавт. [84] показали одночасне збільшення експресії гена і білка UCP2 в серцях дослідів з ішемією–реперфузією, ІП і ІП+ішемією–реперфузією. Отримані нами результати про стимуляцію експресії генів UCP2 і UCP3 за умов ІП [82] є практично ідентичними до даних Liu та співавт. [84], з тією різницею, що вони стосуються тканин серця, а не мозку. Можливо, цей механізм має місце і в інших тканинах, для яких описано ефективність реалізації протекторної дії ішемічного прекодиціонування.

На важливість активації UCP під час аноксії вказує той факт, що виживання клітин у культурі H9c2 повністю нівелювалося при

заглушенні експресії гена UCP2 і частково UCP3 за допомогою інтерферуючих РНК, що було асоційоване зі збільшенням продукції АФК при реоксигенації. Ці дані підтверджуються й іншими дослідженнями, що свідчать на користь участі UCP у реалізації зокрема нейропротекторної дії ІП [84,85]. Більше того, з посиленням експресії білка UCP2 *in vivo* пов'язують не тільки нейропротекторний ефект ІП, але й захисний вплив греліну – ендогенного пептиду, який має антиапоптотичні властивості [84].

Про безпосередню участь UCP у механізмах ІП повідомляють Nadochiy та співавт. [86]. Дослідження протонної провідності мітохондріальних мембран показали, що при реалізації кардіопротекторної дії ІП на моделі ізольованого серця двократно збільшується протонний витік, а ішемія – реперфузія підвищувала цей показник у чотири рази [87]. При цьому за умов ІП протонний витік повністю блокувався гуанідиндифосфатом (інгібітором UCP), а за умов ішемії – реперфузії – карбоксиатрактилозидом (інгібітором аденіннуклеотидтранслокази), циклоспорином А або сангліфегрином (класичними інгібіторами мітохондріальних пор).

Таким чином, дані літератури доводять важливу роль UCP в кардіопротекторних ефектах ІП і вказують на те, що ці білки можуть бути одними з кінцевих ефektorів програми виживання клітини та адаптації до ішемії.

Отже, UCP – одна з ланок ендогенних механізмів адаптації міокарда до ішемії, що активуються в клітині для запобігання руйнівних наслідків окисного стресу. Помірне роз'єднання окисного фосфорилування, що опосередковується UCP, може знизити продукцію АФК дихальним ланцюгом, забезпечити швидке відновлення енергопродукуючої функції мітохондрій уже в ранній постішемічний період і значно збільшити відсоток кардіоміоцитів, що вижили, і, відповідно, сприяти швидкому відновленню функції міокарда. При цьому показано захисну роль

UCP в умовах окисного стресу, зокрема в експериментах з використанням нокаутних тварин. Про належність UCP до протекторної програми клітини свідчить їх участь у реалізації ефектів ішемічного прекодиціювання. Однак наявність у серці двох ізоформ UCP вказує на певну дивергентність їх функціонального навантаження, що потребує подальших досліджень в галузі регуляції дихання мітохондрій, жирового обміну і кальцієвого гомеостазу клітини.

Ю.В. Гошовская

УЧАСТИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ РОЗОБЩАЮЩИХ БЕЛКОВ (UCP) В МЕХАНИЗМАХ ЗАЩИТЫ МИОКАРДА ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕСА

Разобщающие белки (от англ. uncoupling proteins, UCP), содержащиеся во внутренней мембране митохондрий и являющиеся конкурентами АТФ-синтазы для протонов, привлекают к себе внимание не только в связи с процессом термогенеза в тканях бурого жира. Выявление гомологов UCP в митохондриях кардиомиоцитов и демонстрация их протонпроводящих свойств позволяют говорить о регуляторном значении этих белков для мембранного потенциала и, соответственно, для синтеза АТФ. Однако, содержание UCP в кардиомиоцитах на два порядка меньше, чем в буром жире. Поэтому так называемое «мягкое» разобщение окислительного фосфорилирования, что наблюдается при активации сердечных изоформ UCP, может предотвращать чрезмерную продукцию активных форм кислорода в митохондриях. В обзоре приведены собственные и литературные данные, подтверждающие защитную роль активации UCP в предупреждении избыточной продукции активных форм кислорода в условиях окислительного стресса при ишемии миокарда. Обсуждается участие UCP в эндогенных механизмах кардиопротекции, вызываемых ишемическим прекодиционированием.

Ключевые слова: разобщающие белки; окислительный стресс; миокард; ишемия; митохондрий; прекодиционирование.

Iu.V. Hoshovs'ka

THE ROLE OF UNCOUPLING PROTEINS IN MECHANISMS OF PROTECTION FROM OXIDATIVE STRESS

Uncoupling proteins, UCPs, are located in the inner mitochondrial membrane and catalyze proton leak across the inner mitochondrial membrane. While UCP1 from brown adipose tissue (BAT) dissipates energy of proton gradient

as heat mediating process of thermogenesis, the function of cardiac isoforms of UCPs is still debated. Since the content of UCPs in heart tissue is much lesser than in BAT mild uncoupling of respiratory chain by UCPs might regulate membrane potential of cardiac mitochondria, preventing excessive production of reactive oxygen species. The review is focused on own and literature evidences suggesting the protective role of UCPs activation from oxidative stress under ischemia-reperfusion conditions and aging. Participation of UCPs in endogenous mechanisms of cardioprotection induced by ischemic preconditioning is discussed.

Key words: uncoupling proteins; oxidative stress; ischemia; mitochondria; preconditioning

REFERENCES

1. Echtay K. Mitochondrial uncoupling proteins – What is their physiological role? *Free Rad Biol Med.* 2007;43:1351–71.
2. Chen Y-R, Zweier JL. Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation. *Circ Res.* 2014;114(3):524–37.
3. Halestrap A. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die. *Biochem Soc Trans.* 2006;34(2):232–7.
4. McLeod CJ, Aziz A, Hoyt RF, McCoy JP, Sack MN. Uncoupling proteins 2 and 3 function in concert to augment tolerance to cardiac ischemia. *J Biol Chem.* 2005;280(39):33470–6.
5. Mehta SL, Li PA. Neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cerebral stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009;29(6):1069–78.
6. Thomas C, Mackey MM, Diaz AA, Cox DP. Hydroxyl radical is produced via the Fenton reaction in submitochondrial particles under oxidative stress: implications for diseases associated with iron accumulation. *Redox Rep.* 2009;14(3):102–8.
7. Arora S, Vaishya R, Dabla P, Singh B. NAD (P) H oxidases in coronary artery disease. *Adv Clin Chem.* 2010;50:65–86.
8. Bae YS, Oh H, Rhee SG, Do Yoo Y. Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. *Mol Cells.* 2011;32(6):491–509.
9. Robert A, Robert L. Xanthine oxidoreductase, free radicals and cardiovascular disease. *Crit Rev Pathol Oncol Res* 2014 20 1 1. 2013;10.
10. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.* 2003;552(2):335–44.
11. Mikhailov V, Mazurik V, Burlakova E. [Signal function of the reactive oxygen species in regulatory networks of the cell reaction to damaging effects: contribution of radiosensitivity and genome instability]. *Radiatsionnaia Biol Radioecol Akad Nauk.* 2002;43(1):5–18.
12. Das D, Maulik N. Conversion of death signal into survival signal by redox signaling. *Biochem Mosc.* 2004;69(1):10–7.
13. Gutierrez J, Ballinger SW, Darley-Usmar VM, Landar A. Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: The emerging role in signal transduction in vascular cells. *Circ Res.* 2006;99(9):924–32.

14. Guidarelli A, Sciorati C, Clementi E, Cantoni O. Peroxynitrite mobilizes calcium ions from ryanodine-sensitive stores, a process associated with the mitochondrial accumulation of the cation and the enforced formation of species mediating cleavage of genomic DNA. *Free Radic Biol Med.* 2006;41(1):154–64.
15. Pinkus R, Weiner LM, Daniel V. Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF- κ B, and glutathione S-transferase gene expression. *J Biol Chem.* 1996;271(23):13422–9.
16. Petrishchev N, Shliakhto E, Tsyrlin V, Vlasov T, Syrenskii A, Galagudza M. [The role of oxygen free radicals in the mechanisms of local and distant ischemic myocardial preconditioning]. *Vestn Ross Akad Meditsinskikh Nauk Akad Meditsinskikh Nauk.* 2005;(8):10–5.
17. Vanden Hoek TL, Becker LB, Shao Z, Li C, Schumacker PT. Reactive oxygen species released from mitochondria during brief hypoxia induce preconditioning in cardiomyocytes. *J Biol Chem.* 1998 Jul 17;273(29):18092–8.
18. Lesnfsky EJ, Hoppel CL. Ischemia–reperfusion injury in the aged heart: role of mitochondria. *Arch Biochem Biophys.* 2003;420(2):287–97.
19. Lesnfsky EJ, Gudz TI, Migita CT, Ikeda-Saito M, Hassan MO, Turkaly PJ, et al. Ischemic injury to mitochondrial electron transport in the aging heart: damage to the iron–sulfur protein subunit of electron transport complex III. *Arch Biochem Biophys.* 2001;385(1):117–28.
20. Lesnfsky EJ, Gallo DS, Ye J, Whittingham TS, Lust WD. Aging increases ischemia-reperfusion injury in the isolated, buffer-perfused heart. *J Lab Clin Med.* 1994;124(6):843–51.
21. Bouillaud F, Weissenbach J, Ricquier D. Complete cDNA-derived amino acid sequence of rat brown fat uncoupling protein. *J Biol Chem.* 1986;261(4):1487–90.
22. Krauss S, Zhang C-Y, Lowell BB. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6(3):248–61.
23. Cannon B, Shabalina IG, Kramarova TV, Petrovic N, Nedergaard J. Uncoupling proteins: a role in protection against reactive oxygen species—or not? *Biochim Biophys Acta BBA-Bioenerg.* 2006;1757(5):449–58.
24. Fleury C, Neverova M, Collins S, Raimbault S, Champigny O, Levi-Meyreus C, et al. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet.* 1997;15(3):269–72.
25. Gimeno RE, Dembski M, Weng X, Deng N, Shyjan AW, Gimeno CJ, et al. Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog: a potential molecular mediator of human thermogenesis. *Diabetes.* 1997;46(5):900–6.
26. Murray AJ, Anderson RE, Watson GC, Radda GK, Clarke K. Uncoupling proteins in human heart. *The Lancet.* 2004;364(9447):1786–8.
27. Roshon MJ, Kline JA, Thornton LR, Watts JA. Cardiac UCP2 expression and myocardial oxidative metabolism during acute septic shock in the rat. *Shock Augusta Ga.* 2003 Jun;19(6):570–6.
28. Boss O, Samec S, Paoloni-Giacobino A, Rossier C, Dulloo A, Seydoux J, et al. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett.* 1997;408(1):39–42.
29. Vidal-Puig A, Solanes G, Grujic D, Flier JS, Lowell BB. UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997 Jun 9;235(1).
30. Hidaka S, Kakuma T, Yoshimatsu H, Sakino H, Fukuchi S, Sakata T. Streptozotocin treatment upregulates uncoupling protein 3 expression in the rat heart. *Diabetes.* 1999;48(2):430–5.
31. Ježek P, Žáčková M, Řeháková Z, Růžička M, Borecký J, Škobisová E, et al. Existence of uncoupling protein-2 antigen in isolated mitochondria from various tissues. *FEBS Lett.* 1999;455(1):79–82.
32. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 2004;84(1):277–359.
33. Schrauwen P, Hoeks J, Schaart G, Kornips E, Binas B, Van De Vusse GJ, et al. Uncoupling protein 3 as a mitochondrial fatty acid anion exporter. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2003 Dec;17(15):2272–4.
34. Stuart JA, Brindle KM, Harper JA, Brand MD. Mitochondrial proton leak and the uncoupling proteins. *J Bioenerg Biomembr.* 1999;31(5):517–24.
35. Lombardi A, Grasso P, Moreno M, de Lange P, Silvestri E, Lanni A, et al. Interrelated influence of superoxides and free fatty acids over mitochondrial uncoupling in skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta BBA-Bioenerg.* 2008;1777(7):826–33.
36. Jabůrek M, Vařecha M, Gimeno RE, Dembski M, Ježek P, Zhang M, et al. Transport function and regulation of mitochondrial uncoupling proteins 2 and 3. *J Biol Chem.* 1999;274(37):26003–7.
37. Himms-Hagen J, Harper M-E. Physiological role of UCP3 may be export of fatty acids from mitochondria when fatty acid oxidation predominates: an hypothesis. *Exp Biol Med.* 2001;226(2):78–84.
38. Esteves TC, Brand MD. The reactions catalysed by the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3. *Biochim Biophys Acta BBA-Bioenerg.* 2005;1709(1):35–44.
39. Simonyan RA, Skulachev VP. Thermoregulatory uncoupling in heart muscle mitochondria: involvement of the ATP/ADP antiporter and uncoupling protein. *FEBS Lett.* 1998;436(1):81–4.
40. Skulachev VP. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochim Biophys Acta.* 1998 Feb 25;1363(2):100–24.
41. Brand MD, Buckingham JA, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, et al. Mitochondrial superoxide and aging: uncoupling-protein activity and superoxide production. London; Portland on behalf of The Biochemical Society; 1999; 2004. p. 203–14.
42. Echtay KS, Roussel D, St-Pierre J, Jekabsons MB, Cadenas S, Stuart JA, et al. Superoxide activates mitochondrial

- uncoupling proteins. *Nature*. 2002;415(6867):96–9.
43. Murphy MP, Echtay KS, Blaikie FH, Asin-Cayuela J, Cochemé HM, Green K, et al. Superoxide Activates Uncoupling Proteins by Generating Carbon-centered Radicals and Initiating Lipid Peroxidation Studies Using A Mitochondria-Targeted Spin Trap Derived From A-Phenyl-N-Tert-Butylnitron. *J Biol Chem*. 2003;278(49):48534–45.
 44. Hoshovs'ka IV, Lisovyi OO, Shymans'ka TV, Sahach VF. [UCP2 and UCP3 gene expression, heart function and oxygen cost of myocardial work changes during aging and ischemia-reperfusion]. *Fiziolohichniy Zhurnal Kiev Ukr* 1994. 2009;55(3).
 45. Tereshin EV. [A role of fatty acids in the development of oxidative stress in aging. A hypothesis]. *Adv Gerontol Uspekhi Gerontol Ross Akad Nauk Gerontol Obschestvo*. 2007;20(1).
 46. Murray AJ, Cole MA, Lygate CA, Carr CA, Stuckey DJ, Little SE, et al. Increased mitochondrial uncoupling proteins, respiratory uncoupling and decreased efficiency in the chronically infarcted rat heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2008;44(4):694–700.
 47. Rolfe DF, Hulbert AJ, Brand MD. Characteristics of mitochondrial proton leak and control of oxidative phosphorylation in the major oxygen-consuming tissues of the rat. *Biochim Biophys Acta*. 1994 Dec 30;1188(3):405–16.
 48. Serviddio G, Bellanti F, Romano AD, Tamborra R, Rollo T, Altomare E, et al. Bioenergetics in aging: mitochondrial proton leak in aging rat liver, kidney and heart. *Redox Rep Commun Free Radic Res*. 2007;12(1):91–5.
 49. Vidal-Puig AJ, Grujic D, Zhang CY, Hagen T, Boss O, Ido Y, et al. Energy metabolism in uncoupling protein 3 gene knockout mice. *J Biol Chem*. 2000 May 26;275(21):16258–66.
 50. Lu Z, Sack MN. ATF-1 is a hypoxia-responsive transcriptional activator of skeletal muscle mitochondrial-uncoupling protein 3. *J Biol Chem*. 2008;283(34):23410–8.
 51. Horimoto M, Fülöp P, Derdák Z, Wands JR, Baffy G. Uncoupling protein - 2 deficiency promotes oxidant stress and delays liver regeneration in mice. *Hepatology*. 2004;39(2):386–92.
 52. Krauss S, Zhang C-Y, Scorrano L, Dalgaard LT, St-Pierre J, Grey ST, et al. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic β cell dysfunction. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1831–42.
 53. Derdak Z, Mark NM, Beldi G, Robson SC, Wands JR, Baffy G. The mitochondrial uncoupling protein-2 promotes chemoresistance in cancer cells. *Cancer Res*. 2008;68(8):2813–9.
 54. Horimoto M, Resnick MB, Konkin TA, Routhier J, Wands JR, Baffy G. Expression of uncoupling protein-2 in human colon cancer. *Clin Cancer Res*. 2004;10(18):6203–7.
 55. Kim H-S, Park K-G, Koo TB, Huh S, Lee I-K. The modulating effects of the overexpression of uncoupling protein 2 on the formation of reactive oxygen species in vascular cells. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007;77(3):S46–S48.
 56. Bugger H, Guzman C, Zechner C, Palmeri M, Russell KS, Russell III RR. Uncoupling protein downregulation in doxorubicin-induced heart failure improves mitochondrial coupling but increases reactive oxygen species generation. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011;67(6):1381–8.
 57. Brennan JP, Berry RG, Baghai M, Duchon MR, Shattock MJ. FCCP is cardioprotective at concentrations that cause mitochondrial oxidation without detectable depolarisation. *Cardiovasc Res*. 2006;72(2):322–30.
 58. Ganote CE, Armstrong SC. Effects of CCCP-induced mitochondrial uncoupling and cyclosporin A on cell volume, cell injury and preconditioning protection of isolated rabbit cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35(7):749–59.
 59. Sedlic F, Sepac A, Pravdic D, Camara AK, Bienengraeber M, Brzezinska AK, et al. Mitochondrial depolarization underlies delay in permeability transition by preconditioning with isoflurane: roles of ROS and Ca²⁺. *Am J Physiol-Cell Physiol*. 2010;299(2):C506–C515.
 60. Brand MD, Esteves TC. Physiological functions of the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3. *Cell Metab*. 2005;2(2):85–93.
 61. Simkhovich BZ, Marjoram P, Poizat C, Kedes L, Kloner RA. Brief episode of ischemia activates protective genetic program in rat heart: a gene chip study. *Cardiovasc Res*. 2003 Aug 1;59(2):450–9.
 62. Stanton LW, Garrard LJ, Damm D, Garrick BL, Lam A, Kapoun AM, et al. Altered patterns of gene expression in response to myocardial infarction. *Circ Res*. 2000 May 12;86(9):939–45.
 63. Bo H, Wang Y, Li H, Zhao J, Zhang H, Tong C. Endurance training attenuates the bioenergetics alterations of rat skeletal muscle mitochondria submitted to acute hypoxia: role of ROS and UCP3. *Sheng Li Xue Bao Acta Physiol Sin*. 2008;60(6):767–76.
 64. Hoshovs'ka IV, Lisovyi OO, Shymans'ka TV, Sahach VF. [UCP2 and UCP3 gene expression, heart function and oxygen cost of myocardial work changes during aging and ischemia-reperfusion]. *Fiziolohichniy Zhurnal Kiev Ukr* 1994. 2009;55(3).
 65. Safari F, Anvari Z, Moshtaghioun S, Javan M, Bayat G, Forosh SS, et al. Differential expression of cardiac uncoupling proteins 2 and 3 in response to myocardial ischemia-reperfusion in rats. *Life Sci*. 2014;98(2):68–74.
 66. Zhang C-Y, Parton LE, Ye CP, Krauss S, Shen R, Lin C-T, et al. Genipin inhibits UCP2-mediated proton leak and acutely reverses obesity-and high glucose-induced β cell dysfunction in isolated pancreatic islets. *Cell Metab*. 2006;3(6):417–27.
 67. Hoshovs'ka IV, Shymans'ka TV, Sahach VF. [Effect of UCP2 activity inhibitor genipin on heart function of aging rats]. *Fiziolohichniy Zhurnal Kiev Ukr* 1994. 2009;55(5).
 68. Lu Z, Sack MN. ATF-1 is a hypoxia-responsive transcriptional activator of skeletal muscle mitochondrial-uncoupling protein 3. *J Biol Chem*. 2008;283(34):23410–8.
 69. Nobori K, Ito H, Tamamori-Adachi M, Adachi S, Ono Y, Kawachi J, et al. ATF3 inhibits doxorubicin-induced apoptosis in cardiac myocytes: a novel cardioprotective role of ATF3. *J Mol Cell Cardiol*. 2002;34(10):1387–97.

70. Nordlie MA, Wold LE, Simkhovich BZ, Sesti C, Kloner RA. Molecular aspects of ischemic heart disease: ischemia/reperfusion-induced genetic changes and potential applications of gene and RNA interference therapy. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2006;11(1):17–30.
71. Zhang C, Xie Y, Chen P, Hong X, Xiao Z, Ma Y, et al. [Nuclear factor kappa B signal transduction in macrophages during hypoxia: reactive oxygen species generation]. *Sheng Li Xue Bao Acta Physiol Sin.* 2004;56(4):515–20.
72. Cortez-Pinto H, Lin HZ, Yang SQ, da Costa SO, Diehl AM. Lipids up-regulate uncoupling protein 2 expression in rat hepatocytes. *Gastroenterology.* 1999;116(5):1184–93.
73. Kim H-S, Park K-G, Koo TB, Huh S, Lee I-K. The modulating effects of the overexpression of uncoupling protein 2 on the formation of reactive oxygen species in vascular cells. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77(3):S46–S48.
74. Ebert BL, Bunn HF. Regulation of transcription by hypoxia requires a multiprotein complex that includes hypoxia-inducible factor 1, an adjacent transcription factor, and p300/CREB binding protein. *Mol Cell Biol.* 1998;18(7):4089–96.
75. Takeo S, Nasa Y. Role of energy metabolism in the preconditioned heart—a possible contribution of mitochondria. *Cardiovasc Res.* 1999;43(1):32–43.
76. Ozcan C, Palmeri M, Horvath TL, Russell KS, Russell III RR. Role of uncoupling protein 3 in ischemia-reperfusion injury, arrhythmias, and preconditioning. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* 2013;304(9):H1192–H1200.
77. Haines BA, Mehta SL, Pratt SM, Warden CH, Li PA. Deletion of mitochondrial uncoupling protein-2 increases ischemic brain damage after transient focal ischemia by altering gene expression patterns and enhancing inflammatory cytokines. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010;30(11):1825–33.
78. Yellon D, Alkhulaifi A, Pugsley W. Preconditioning the human myocardium. *The Lancet.* 1993;342(8866):276–7.
79. Oshima Y, Fujio Y, Nakanishi T, Itoh N, Yamamoto Y, Negoro S, et al. STAT3 mediates cardioprotection against ischemia/reperfusion injury through metallothionein induction in the heart. *Cardiovasc Res.* 2005;65(2):428–35.
80. St-Pierre J, Lin J, Krauss S, Tarr PT, Yang R, Newgard CB, et al. Bioenergetic analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivators 1alpha and 1beta (PGC-1alpha and PGC-1beta) in muscle cells. *J Biol Chem.* 2003 Jul 18;278(29):26597–603.
81. McLeod CJ, Aziz A, Hoyt RF, McCoy JP, Sack MN. Uncoupling proteins 2 and 3 function in concert to augment tolerance to cardiac ischemia. *J Biol Chem.* 2005;280(39):33470–6.
82. Hoshovs'ka IV, Shymans'ka TV, Sahach VF. [Genipin--uncoupling protein inhibitor--reduces the protective effect of ischemic preconditioning]. *Fiziolohichnyi Zhurnal Kiev Ukr.* 1994. 2011;57(6).
83. Mattiasson G, Shamloo M, Gido G, Mathi K, Tomasevic G, Yi S, et al. Uncoupling protein-2 prevents neuronal death and diminishes brain dysfunction after stroke and brain trauma. *Nat Med.* 2003;9(8):1062–8.
84. Liu Y, Chen L, Xu X, Vicaut E, Sercombe R. Both ischemic preconditioning and ghrelin administration protect hippocampus from ischemia/reperfusion and upregulate uncoupling protein-2. *BMC Physiol.* 2009;9(1):17.
85. Mehta SL, Li PA. Neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cerebral stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009;29(6):1069–78.
86. Nadochiy S, Tompkins A, Brookes P. Different mechanisms of mitochondrial proton leak in ischaemia/reperfusion injury and preconditioning: implications for pathology and cardioprotection. *Biochem J.* 2006;395:611–8.
87. Nadochiy S, Tompkins A, Brookes P. Different mechanisms of mitochondrial proton leak in ischaemia/reperfusion injury and preconditioning: implications for pathology and cardioprotection. *Biochem J.* 2006;395:611–8.
88. Criscuolo F, Mozo J, Hurtaud C, Nübel T, Bouillaud F. UCP2, UCP3, avUCP, what do they do when proton transport is not stimulated? Possible relevance to pyruvate and glutamine metabolism. *Biochim Biophys Acta BBA-Bioenerg.* 2006;1757(9):1284–91.

Матеріал надійшов до редакції 04.06.2014