

Ендотеліальний моноцитаактивуєчий поліпептид II та його попередник проЕМАР/р43 зменшують порушення функції ізольованого серця після ішемії-реперфузії

Ю.В. Гошовська¹, Р.А. Федічкіна¹, О.І. Корнелюк², В.Ф. Сагач¹

¹Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАНУ, Київ;

²Інститут молекулярної біології і генетики НАНУ, Київ; e-mail: goshovska@biph.kiev.ua

Ендотеліальний моноцитаактивуєчий поліпептид II (ЕМАРІІ) зменшує окисний стрес та відновлює спряження конститутивної NOS, як було раніше показано на моделі щурів із спонтанною гіпертензією. Ми припустили, що ЕМАРІІ може попередити розвиток окисного стресу, спричиненого ішемією-реперфузією. Шурам лінії Вістар в хвостову вену за 30 хв до початку експерименту вводили ЕМАРІІ (30мкг/кг) або проЕМАРІІ/р43 (10 мкг/кг). На ізольованих серцях моделювали ішемію-реперфузію – 20 хв ішемії і 40 хв реперфузії. Як ЕМАРІІ, так і р43 знижували індуковане ішемією порушення функції серця та попереджали неефективне використання кисню реперфузованим міокардом. Зокрема, в контрольній групі на 40-й хвилині реперфузії тиск у лівому шлуночку становив всього 43,8% від вихідного рівня, в той час як у групах з ЕМАР ІІ і р43 – 61,5 і 82% відповідно. На 5-й хвилині реперфузії киснева вартість роботи становила 9×10^{-7} ммоль O_2 хв⁻¹ г⁻¹ тканини в контролі, що в 5,6 рази вище від доішемичного рівня, в той час як ЕМАРІІ і р43 повністю попереджали зростання цього показника на реперфузії. Крім того, і ЕМАРІІ, і р43 запобігали вивільненню мітохондріального фактора з ішемізованих сердець, що свідчить про інгібування відкриття мітохондріальних пор транзиторної проникності. Таким чином, ми показали, що введення ЕМАРІІ та р43 мають кардіопротекторний ефект.

Ключові слова: серце; ішемія-реперфузія; кардіопротекція; ЕМАРІІ; проЕМАР/р43; мітохондріальна поря транзиторної проникності.

ВСТУП

Ішемічне пошкодження тканин виникає за багатьох патологічних станів і супроводжується розвитком оксидативного та нітрозативного стресу з утворенням великої кількості активних форм кисню (АФК), в першу чергу мітохондріального походження [1, 2]. Основним джерелом АФК при ішемії-реперфузії вважаються перший та третій комплекси дихального ланцюга мітохондрій [3], а інгібування реверсного режиму їх роботи супроводжується зменшенням ішемічно-реперфузійного ураження міокарда [4]. Як основний медіатор ішемічно-реперфузійного ушкодження розглядається супероксидний

© Ю.В. Гошовська, Р.А. Федічкіна, О.І. Корнелюк, В.Ф. Сагач

радикал, що продукується першим комплексом дихального ланцюга мітохондрій внаслідок зворотного потоку електронів і накопичення сукцинату [5, 6]. З'ясовується роль кальпаїну в процесі корекції надмірної продукції АФК [7], інгібування діацетилази гістонів (HDAC1) для запобігання розвитку реперфузійних порушень функції серця [8], активації р38а-залежної кінази як причини збільшення продукції АФК у мітохондріях [9] тощо. Серед нових підходів, що забезпечують антиоксидантний ефект і попередження оксидативного ушкодження тканин, значну ефективність продемонструвало використання скавенджера власне мітохондріального

супероксидного радикала MitoTEMPO [10], а також використання синтетичних miR-424, що супроводжувалось активацією антиоксидантної системи і зменшенням зони інфаркту [11]. Було показано, що ендогенний сірководень, а також введення донора сірководню за умов його дефіциту при артеріальній гіпертензії пригнічує розвиток оксидативного стресу [12, 13] та попереджує реперфузійні пошкодження міокарда при ішемії-реперфузії [14, 15]. При цьому один із механізмів, які активуються сірководнем, є часткове відновлення ендотеліально-залежного розслаблення судин [16].

Раніше нами показано, що значний антиоксидантний вплив та покращення кардіо- та гемодинаміки при гіпертензії має введення моноцитаривуючого поліпептиду II (endothelial monocyte-activating polypeptide II, ЕМАРІІ), який відновлював спряження конститутивної синтази оксиду азоту (eNOS), знижував окисно-нітрозативний стрес та нормалізував роботу серця шурів з генетично детермінованою спонтанною гіпертензією [17]. ЕМАРІІ є мультифункціональним поліпептидом, який належить до групи прозапальних цитокінів і має багато біологічних ефектів, серед яких стимулювання апоптозу, інгібування адгезії ендотеліоцитів та макрофагів, з чим пов'язують його перспективу у протиракових дослідженнях; була показана здатність ЕМАР ІІ стимулювати експресію індукцйбельної NOS та збільшувати ендотеліальну та NO-залежну дилатацію легеневої артерії [18] тощо.

Цікаво, що попередником цього протеїну є проЕМАР/р43 (р43) [19] – невід'ємний компонент аміноацил ТРНК-синтазного комплексу (ARS-комплекс), завдяки чому він бере безпосередню участь у синтезі білка [20]. У вищих еукаріотів 9 ARS-комплексів (специфічних для амінокислот Arg, Asp, Gln, Glu, Ile, Leu, Lys, Met, Pro) об'єднуються в $1-1,5 \cdot 10^{-6}$ Да мультибілковий комплекс, у межах якого р43 займає центральну позицію і разом з іншими двома протеїнами р18 і р38 забезпечує його стабільність. Завдяки своїй функції і експресії в усіх клітинах, ген р43, як

і більшість генів білків-учасників трансляції білка, може вважатись геном домашнього господарства і маркером біосинтезу білка. Хоча рівні експресії р43 можуть відрізнитись і значно збільшуються в місцях апоптозу і ремоделювання тканин [21, 22].

Функції білка р43 зумовлюються його структурними доменами [20]. Р43 складається із 312 амінокислотних залишків (ам. к.), з яких ЕМАРІІ являє собою С-термінальну частину р43 і відповідає 147-312 ам.к. Крім найбільш відомого ТРНК-зв'язувального домену (151-252 ам.к.), в положенні 6-46 маркують домен, що відповідає за проліферацію фібробластів, 114-192 – за ендотеліальну міграцію, 152-156 – за індукцію і міграцію моноцитів і лейкоцитів, запальну відповідь і зв'язування з білками моноцитарного походження. Виділяють коротку послідовність у положенні 101-114, що відповідає за апоптоз ендотеліальних клітин, а також 2 гепаринзв'язувальних домени, які залучені до антиангіогенної дії р43.

Незважаючи на те, що р43 та ЕМАРІІ локалізуються у цитоплазмі, були виконані дослідження, що виявили їх наявність у крові. Зокрема підвищений ЕМАРІІ у крові пацієнтів з відторгнутим трансплантатом рогівки ока був «звинувачений» в апоптозі рогівкового ендотелію, як основного механізму відторгнення [23]. З іншого боку, у пацієнтів, що лікували гліобластому, і мали вищий вміст ЕМАРІІ, спостерігали більш тривалий безрецидивний період [24]. Крім того, збільшений вміст р43 і ЕМАРІІ було виявлено у крові вагітних жінок, однак вони не збільшувались у разі преаєклампсії [25]. Таким чином, вивільнення цих білків у кров'яне русло може вказувати на їх системний вплив на організм і виконання ними певної сигнальної функції.

Було показано, що за умов стресу, апоптозу та гіпоксії р43 протеолітично розщеплюється з утворенням ЕМАРІІ [26-28], а вазодилатація, що спостерігається при ЕМАРІІ-індукованому запаленні є NO-залежною і значно зменшується при додаванні інгібітора NO-

синтаз L-NAME [18]. Таким чином, ЕМАРІІ може регулювати продукцію NO і тонус судин, що в свою чергу може мати ефект при гострих станах, зокрема при ішемії-реперфузії.

Метою нашої роботи було визначити здатність ЕМАРІІ та його попередника р43 впливати на ішемічно-реперфузійні порушення функції серця.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили з використанням статевозрілих самців щурів лінії Вістар масою 330-350 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця з вільним доступом до води. У дослідах застосовували стабілізований 1,5%-м декстраном-70 ліофілізований рекомбінантний білок ЕМАРІІ людини та його попередник р43, які було отримано методом бактеріальної експресії співробітниками відділу білкової інженерії та біоінформатики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (керівник – член-кор. НАН України О.І. Корнелюк). ЕМАРІІ або р43 вводили в хвостову вену з розрахунку 30 та 10 мкг/кг відповідно за 30 хв до декапітації [17].

Коронарні судини ізольованого серця щурів перфузували ретроградно під постійним перфузійним тиском 80 мм рт. ст. з використанням розчину Кребса-Хензеляйта (NaCl – 118 ммоль/л; KCl – 4,7 ммоль/л; MgSO₄ – 1,2 ммоль/л; NaHCO₃ – 24 ммоль/л; KH₂PO₄ – 1,2 ммоль/л; глюкоза – 10 ммоль/л; CaCl₂ – 2,5 ммоль/л), який аерували карбогеном. Для стандартизації експерименту час стабілізації роботи серця становив 30-35 хв.

Ішемію-реперфузію моделювали повним перекриттям потоку перфузуючого розчину на 20 хв та подальшого його відновлення і відстеження параметрів кардіодинаміки протягом 40 хв. Вимірювали тиск, що розвивався в порожнині лівого шлуночка (P_{лшл}), його першу похідну dP/dt_{max} і dP/dt_{min}, кінцево-діастолічний тиск (КДТ), які реєстрували з допомогою тензодатчика 746 (Мінгограф-82,

„Elema”, Швеція) і записували цифровий сигнал за допомогою програмного забезпечення GlobalLab. Значення коронарного потоку визначали як об’єм розчину, що відтікав від серця за 1 хв. Розраховували інтенсивність скоротливої функції (ІСФ) як добуток тиску, що розвивається в лівому шлуночку, і частоти серцевих скорочень (ЧСС). Для розрахунку артеріо-венозної різниці вимірювали напруження кисню у пробах розчину, що притікав і відтікав від серця, за допомогою газоаналізатора BMS 3 Mk 2 (Данія). Напруження кисню в буфері на вході в серце становило в середньому 400-450 мм рт. ст. Споживання кисню міокардом розраховували за методом Neely [29], враховуючи коронарний потік і суху масу серця, яка в середньому становила 0,212 г. Кисневу вартість роботи серця виражали як співвідношення споживання кисню до ІСФ. Результати представляли як середнє ± стандартна похибка і зображали у вигляді графіків залежності показника від часу.

Для оцінки ступеня ішемічного пошкодження міокарда та зміни проникності мітохондріальних мембран під дією ішемії вимірювали оптичну щільність відтікаючих від серця проб в ультрафіолетовій ділянці спектра ($\lambda=230-260$ нм). Про вивільнення мітохондріального фактора як маркера відкривання мітохондріальних пор говорили при появі піку поглинання розчинів, який розраховували як різницю між максимальним значенням екстинції (при 245-250 нм) та мінімальним (при 230-235 нм) у кожному експерименті [30]. Проби відбирали до ішемії та за першу хвилину реперфузії. Результати зображали у вигляді графіків залежності екстинції від довжини хвилі.

Статистичну обробку проводили з використанням критерію Мана-Уїтні, достовірними вважали зміни при P<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з результатів, наведених у таблиці, внутрішньовенне введення р43 щурам за 30

хв до початку експерименту суттєво не впливало на показники кардіодинаміки ізольованого серця. В групі з попереднім введенням ЕМАРІІ меншими були показники dP/dt_{\min} (на 18,7%, $P<0,02$) та ЧСС (на 23,7%, $P<0,001$), що закономірно відобразилось на ІСФ, яка була зниженою на 19,6% порівняно з контрольною групою ($P<0,01$). Однак споживання кисню і киснева вартість роботи міокарда не відрізнялися від значень у контролі.

Водночас введення ЕМАРІІ і р43 суттєво впливало на відновлення показників скоротливої активності ізольованого серця під час реперфузії. Зокрема, це стосувалося в першу чергу змін $P_{\text{ЛШЛ}}$ (рис. 1, а). В контрольній групі на 5-й хвилині реперфузії тиск відновлювався до $38,6 \pm 6,4$ мм рт.ст., тобто до 30,3% від вихідного значення. В групах із введенням ЕМАРІІ і р43 $P_{\text{ЛШЛ}}$ відновлювався до 70,0 і 93,2% відповідно ($P<0,001$). На 40-й хвилині цей показник у контрольній групі становив всього 43,8% від вихідного рівня, в той час як у групах з введенням ЕМАРІІ і р43 – 61,5

($P<0,01$) і 82% ($P<0,001$) відповідно.

Така сама динаміка спостерігалась і відносно першої похідної від тиску dP/dt (див. рис. 1, в). У контрольній групі dP/dt_{\max} на 5-й хвилині реперфузії становив 27,6% відносно його вихідного значення, а в групах з введенням ЕМАРІІ і р43 – 67,2 і 98% ($P<0,001$); до кінця експерименту цей показник відновлювалось до 40,8% в контролі, до 63,6% в групі з ЕМАРІІ ($P<0,01$) і до 90,4% в групі з р43 ($P<0,001$). Відновлення dP/dt_{\min} відбувалось аналогічним чином. Важливо відмітити, що досліджувані пептиди значною мірою запобігали збільшенню КДТ під час реперфузії, – показника, який характеризує еластичність міокарда. Зростання КДТ на ранньому етапі реперфузії в 13 разів ($P<0,001$) є типовою картиною для контрольної серії (див. рис. 1, б). Крім того, введення пептидів попереджало суттєве зниження ІСФ (див. рис. 1, г). Отже, ми спостерігали достовірну різницю у відновленні тиску і скоротливої активності міокарда протягом реперфузії за попередньої дії ЕМАРІІ і його попередника.

Показники функціонального стану ізольованого серця щурів після введення ЕМАРІІ і р43 перед початком ішемії ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=16)	ЕМАРІІ (n=10)	р43 (n=6)
Тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст.	127,4 \pm 3,8	139,0 \pm 7,0	150,0 \pm 9,7
Кінцево-діастолічний тиск, мм рт.ст.	4,0 \pm 0,6	2,2 \pm 0,4	1,5 \pm 0,6
Максимальна швидкість скорочення міокарда (dP/dt_{\max}), мм рт.ст.*с ⁻¹	2386 \pm 84	2246 \pm 110	2341 \pm 198
Максимальна швидкість розслаблення (dP/dt_{\min}), мм рт.ст.*с ⁻¹	2133 \pm 79	1734 \pm 87*	1961 \pm 45
Коронарний потік, мл*хв ⁻¹	12,3 \pm 0,5	10,6 \pm 0,6	12,0 \pm 1,0
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	244 \pm 6	184 \pm 16***	221 \pm 23
Інтенсивність скоротливої функції, ум. од	31432 \pm 1096	25265 \pm 1670**	32905 \pm 2185
Споживання кисню $\times 10^{-3}$, ммоль O ₂ хв ⁻¹ г ⁻¹	4,88 \pm 0,25	4,09 \pm 0,24	4,26 \pm 0,1
Киснева вартість роботи серця $\times 10^{-7}$, ммоль O ₂ хв ⁻¹ г ⁻¹	1,61 \pm 0,09	1,68 \pm 0,07	1,32 \pm 0,1

*P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001.

Незважаючи на відсутність достовірної різниці між трьома групами в до ішемічний період, значення коронарного потоку під впливом введення р43 мало тенденцію до зростання протягом реперфузії (див. рис. 1, е). Це позначилося також на споживанні кисню серцем, яке хоча й суттєво не відрізнялось між групами (рис. 2, а), однак в результаті

киснева вартість роботи серця в групах з введенням ЕМАРІІ і р43 достовірно відрізнялась від контролю (див. рис. 2, б), що вказує на більшу ефективність використання кисню ішемізованим міокардом у цих групах.

Відсутність різниці в кількості спожитого кисню на фоні значного зниження скоротливої активності міокарда і роботи

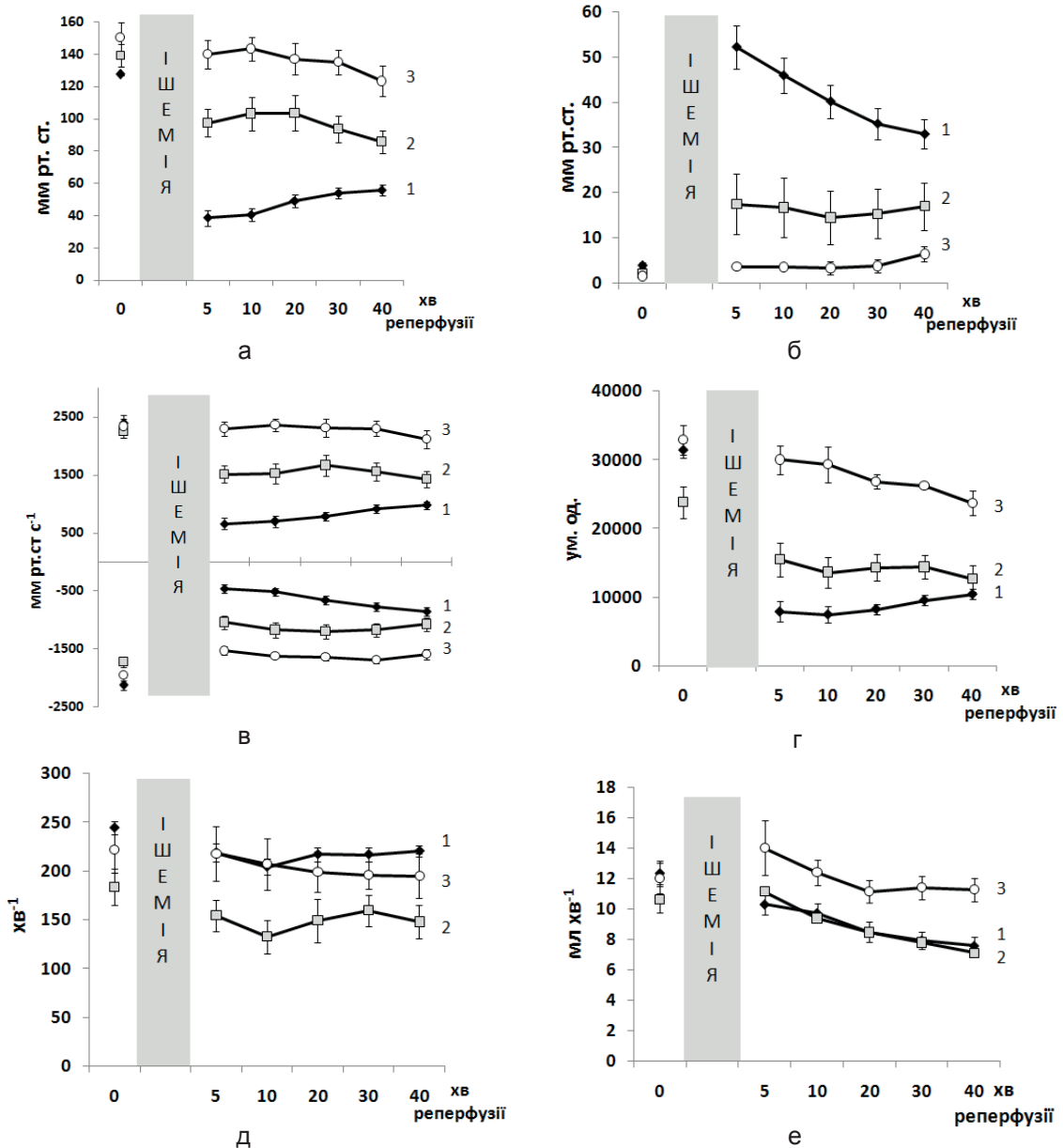


Рис. 1. Відновлення скоротливої активності міокарда ізолюваного серця після ішемії-реперфузії: а – тиск у лівому шлуночку, б – кінцево-діастолічний тиск, в – швидкість наростання і зниження тиску, г – інтенсивність скоротливої функції, д – частота серцевих скорочень, е – коронарний потік; 1 - контроль, 2 - ЕМАРІІ, 3 - р43

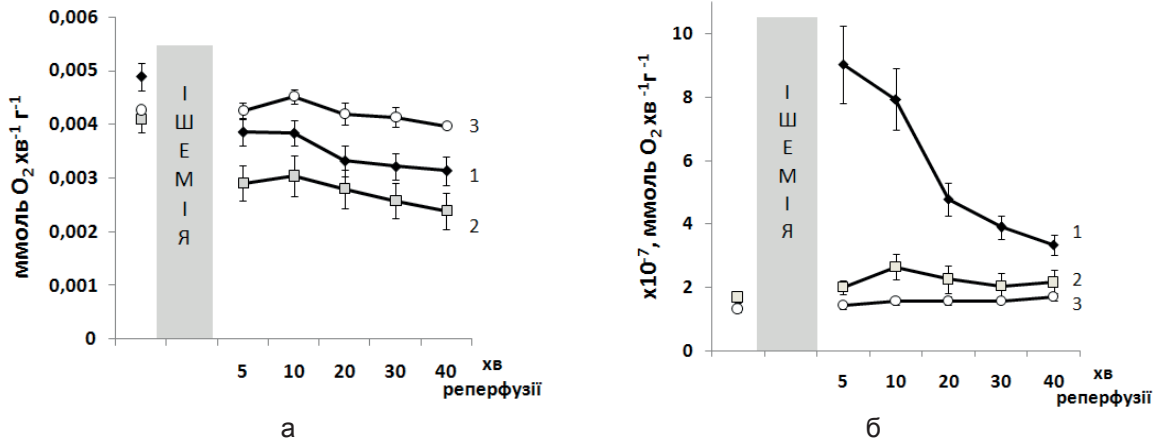


Рис. 2. Вплив ЕМАРІІ та р43 на кисневі показники роботи серця за ішемії-реперфузії: а – споживання кисню міокардом, б – киснева вартість роботи серця; 1-контроль, 2-ЕМАРІІ, 3-р43

серця закономірно призвела до суттєвого зростання кисневої вартості роботи серця тварин контрольної групи. Цей показник на 5-й хвилині реперфузії перевищував вихідне значення в 5,6 раза (див. рис. 2, б), поступово знижуючись до 2 разів від доішемічного рівня в кінці спостереження. Це вказує на те, що зростання кисневої вартості роботи серця в контрольній групі зумовлене використанням спожитого тканинами кисню не для забезпечення процесу скорочення, а значною мірою на утворення супероксидного радикала ($^{\bullet}O_2^-$), продукція якого в першу чергу є результатом неспряження окисних процесів в дихальному ланцюзі мітохондрій під час ішемії-реперфузії [31]. Цікаво, що введення ЕМАРІІ і р43 повністю попереджало зростання кисневої вартості роботи, що може вказувати на збільшення ефективності використання кисню міокардом за умов експериментальної ішемії-реперфузії.

Попередження зростання кисневої вартості роботи міокарда опосередковано свідчить про зменшення продукції АФК, які мають потужний стимуляторний ефект на відкриття мітохондріальних пор транзиторної провідності (mitochondrial permeability transition pore, МРТР) при ішемії-реперфузії [1]. Запобігання масивного утворення МРТР забезпечує збереження цілісності мітохондріальних мембран,

попереджає вивільнення проапоптичних факторів в цитоплазму і сприяє збереженню їх АТФ-синтезувальної функції, що є критичним фактором для швидкого відновлення скоротливої активності міокарда після ішемії. Раніше нами було показано, що збільшення оптичної щільності розчинів, що відтікають від ізольованого серця, і вивільнення мітохондріального фактора за першу хвилину реперфузії, значною мірою є циклоспорин А-залежним процесом, і корелює зі ступенем порушення скоротливої активності міокарда після ішемії [30]. При цьому варто зазначити, що дія циклоспорину А є схожою до ефекту ішемічного прекодиціювання, коли кардіопротекція теж реалізується в основному через пригнічення МРТР, зменшуючи при цьому оптичну щільність розчинів приблизно вдвічі [32, 33]. Таким чином, спектрофотометричні дослідження наявності мітохондріального фактора в елюатах можуть слугувати маркером відкриття МРТР для оцінки ступеня пошкодження міокарда.

У наших дослідках ішемія-реперфузія індукувала появу піка оптичного поглинання розчинів при $\lambda=250$ нм, який становив $0,1 \pm 0,015$ ум. од. (рис. 3, б), що вказує на відкриття МРТР і вивільнення мітохондріального фактора. Попереднє введення ЕМАРІІ і р43 зменшували це значення до

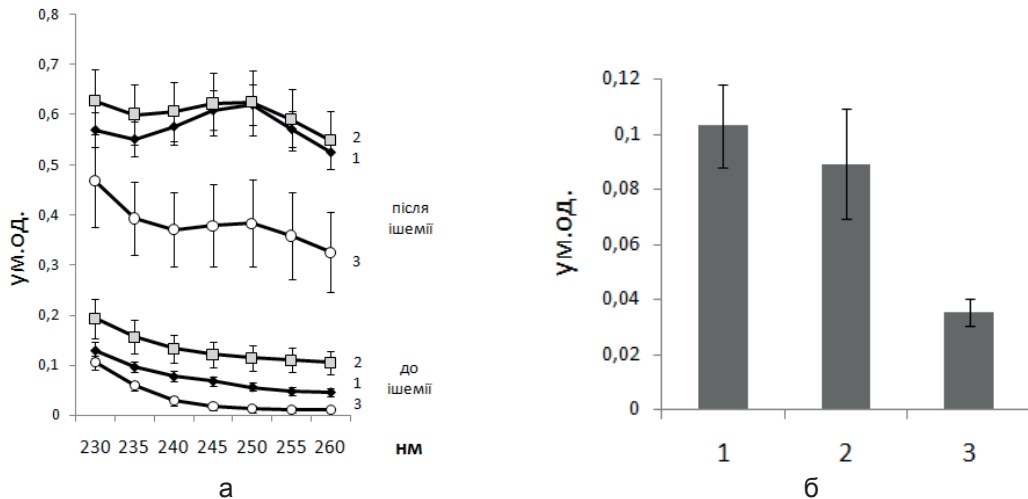


Рис. 3. Зміни оптичної щільності розчинів, що відтікають від ізольованого серця щура після ішемії (а) та мітохондріальний фактор (б) в контролі (1), за дії ЕМАРІІ (2) і р43 (3)

0,089±0,02 і 0,035±0,004 ум. од. відповідно. Незважаючи на те, що динаміка кривої оптичної щільності розчину після ішемії в контролі і в серії з ЕМАРІІ є однаковою (див. рис. 3, а), поява піка спостерігалася тільки в 50% експериментів, в той час як у контрольних дослідах збільшення екстинції розчинів при 245 нм відбувалось більш ніж у 90% випадків. Отже, ЕМАРІІ і р43 пригнічували відкривання МРТР, і зменшували пошкоджувальну дію ішемії на мітохондріальні мембрани.

Як показали наші попередні дослідження, введення ЕМАРІІ може суттєво пригнічувати прояви оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах серця і порушення кардіодинаміки та судинного тону при гіпертензії [17]. Це вказує на те, що захисний ефект ЕМАРІІ на порушення діяльності серця при ішемії-реперфузії, який ми спостерігали, ймовірно зумовлений його здатністю пригнічувати оксидативно-нітрозативний стрес у тканинах серця, відновлювати спряження сNOS, як було виявлено в попередніх наших дослідженнях [17], і стимулювати експресію іNOS, синтез NO та збільшувати ендотелій- та NO-залежну вазодилатацію [18]. Ми показали, що не лише ЕМАРІІ, але і його попередник р43 в обраних дозах проявляють кардіопротекторні

властивості. Одним із можливих механізмів може бути пригнічення відкривання МРТР. Крім того, зважаючи, що р43 є компонентом тРНК-синтазного комплексу, його дія може бути пов'язаною з активацією синтезу білка в ішемізованих ділянках, однак, для з'ясування механізмів захисної дії ЕМАРІІ і р43 потрібне подальше дослідження.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

**Y.V. Goshovska¹, R.A. Fedichkina¹,
O.I. Korneliuk², V.F. Sagach¹.**

**ENDOTHELIAL MONOCYTE-ACTIVATING
POLYPEPTIDE-II AND PROEMAP/P43
DIMINISH ISOLATED HEART FUNCTION
DISTURBANCES AFTER
ISCHEMIA-REPERFUSION**

Endothelial Monocyte-Activating Polypeptide II (EMAPII) was showed to decrease oxidative stress and restore cNOS coupling in rat model of genetically determined hypertension. We hypothesized that EMAPII is able to prevent oxidative stress induced by ischemia-reperfusion. Wistar rats were pre-

treated with EMARII (30mg/kg) or its precursor proEMARII/p43 (10 mg/kg) injected i.v. 30 min before the experiment. Isolated hearts were subjected to 20 min total ischemia and 40 min reperfusion. EMARII as well as p43 greatly diminished ischemia-reperfusion induced disturbances of heart function and prevented non-effective oxygen utilization by reperfused myocardium. In particular, in the control group at the 40th min of reperfusion, the left ventricular pressure was only 43.8%, while in groups with EMARII and p43 - 61.5 (P <0.01) and 82 % (P <0.001), respectively. At the 5th min of reperfusion, the oxygen cost of myocardial work was 9×10^{-7} mmol O₂ min⁻¹ per g of tissue in control which is 5.6 times higher than that observed before ischemia, while EMARII and p43 completely prevented an increase of this parameter at reperfusion. Additionally, p43 and EMARII prevented the release of mitochondrial factor from ischemized heart indicating at least partial inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening. Thus, we have found the cardioprotective effect of exogenous p43 and EMARII.

Key words: heart; ischemia; cardioprotection; EMARII; proEMAR/p43; mitochondrial permeability transition pore.

¹Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine;

²Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine; e-mail: goshovska@biph.kiev.ua

**Ю.В. Гошовская, Р.А. Федичкина,
А.И. Корнелюк, В.Ф. Сагач**

ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ МОНОЦИТАКТИВИРУЮЩИЙ ПОЛИПЕПТИД II И ЕГО ПРЕДШЕСТВЕННИК проЕМАР/р43 УМЕНШАЮТ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИИ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА ПОСЛЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

Эндотелиальный моноцитактивирующий полипептид II (EMARII) снижает показатели окислительного стресса и восстанавливает сопряжение конститутивной NO-синтазы на модели крыс с генетически детерминированной гипертензией как нами показано ранее. Мы предположили, что EMARII может предотвращать развитие окислительного стресса и нарушение функции сердца в условиях ишемии-реперфузии. Половозрелым самцам крыс линии Вистар в хвостовую вену за 30 мин до начала эксперимента вводили EMARII (30 мкг/кг) или его предшественник проEMARII/p43 (10 мкг/кг). На изолированных сердцах моделировали 20-минутную ишемию и 40-минутную реперфузию. Как EMARII, так и р43, снижали уровень нарушения функции сердца после ишемии-реперфузии и предупреждали неэффективное использование кислорода реперфузируемым миокардом. В частности, в контрольной группе на 40-й минуте реперфузии давление в левом желудочке составляло всего 43,8% от исходного уровня, в то время как в группах с введением EMARII и р43 - 61,5 и 82 % соответственно. На 5-й минуте реперфузии кислородная стоимость работы миокарда составляла 9×10^{-7} ммоль O₂ мин⁻¹ г⁻¹ в

контроле, что в 5,6 раза выше ишемического уровня, в то время как EMARII и р43 полностью предупреждали рост этого показателя на реперфузии. Кроме того, и EMARII, и р43 предотвращали высвобождение митохондриального фактора из ишемизированного сердца, что указывает на ингибирование митохондриальных пор транзитной проницаемости. Таким образом, введение EMARII и р43 имеет кардиопротекторный эффект.

Ключевые слова: сердце; ишемия-реперфузия; кардиопротекция; EMARII; проEMAR/p43; митохондриальная пора переменной проницаемости.

REFERENCES

1. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radic Biol Med.* 2018; 117:76-89. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.
2. Chen YR, Zweier JL. Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation. *Circ Res.* 2014;114(3):524-37. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.300559.
3. Chen Q, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ. Ischemic defects in the electron transport chain increase the production of reactive oxygen species from isolated rat heart mitochondria. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008; 294(2):C460-6.
4. Xu A, Szczepanek K, Maceyka MW, Ross T, Bowler E, Hu Y, Kenny B, Mehroud C, Desai PN, Baumgarten CM, Chen Q, Lesnefsky EJ. Transient complex I inhibition at the onset of reperfusion by extracellular acidification decreases cardiac injury. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2014;306(12):C1142-53. doi: 10.1152/ajpcell.00241.2013.
5. Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, Aksentijevic D, Sundier SY, Robb EL, Logan A, Nadtochiy SM, Ord ENJ, Smith AC, Eyassu F, Shirley R, Hu CH, Dare AJ, James AM, Rogatti S, Hartley RC, Eaton S, Costa ASH, Brookes PS, Davidson SM, Duchon MR, Saeb-Parsy K, Shattock MJ, Robinson AJ, Work LM, Frezza C, Krieg T, Murphy MP. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature.* 2014;515(7527):431-435. doi: 10.1038/nature13909.
6. Andrienko TN, Pasdois P, Pereira GC, Ovens MJ, Halestrap AP. The role of succinate and ROS in reperfusion injury - A critical appraisal. *J Mol Cell Cardiol.* 2017;110:1-14. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.06.016.
7. Chen B, Zhao Q, Ni R, Tang F, Shan L, Cepinskas I, Cepinskas G, Wang W, Schiller PW, Peng T. Inhibition of calpain reduces oxidative stress and attenuates endothelial dysfunction in diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:88. doi: 10.1186/1475-2840-13-88.
8. Herr DJ, Baarine M, Aune SE, Li X, Ball LE, Lemasters JJ, Beeson CC, Chou JC, Menick DR. HDAC1 localizes to the mitochondria of cardiac myocytes and contributes to early cardiac reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2018;114:309-319. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.12.004.
9. Trempolec N, Muñoz JP, Slobodnyuk K, Marin S, Cascante M, Zorzano A, Nebreda AR. Induction of oxidative metabolism by the p38α/MK2 pathway. *Sci*

- Rep. 2017;7(1):11367. doi: 10.1038/s41598-017-11309-7.
10. Miura S, Saitoh SI, Kokubun T, Owada T, Yamauchi H, Machii H, Takeishi Y. Mitochondrial-Targeted Antioxidant Maintains Blood Flow, Mitochondrial Function, and Redox Balance in Old Mice Following Prolonged Limb Ischemia. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9). doi: 10.3390/ijms18091897.
 11. Liu P, Zhao H, Wang R, Wang P, Tao Z, Gao L, Yan F, Liu X, Yu S, Ji X, Luo Y. MicroRNA-424 protects against focal cerebral ischemia and reperfusion injury in mice by suppressing oxidative stress. *Stroke.* 2015;46(2):513-9. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.007482.
 12. Ng HH, Yildiz GS, Ku JM, Miller AA, Woodman OL, Hart JL. Chronic NaHS treatment decreases oxidative stress and improves endothelial function in diabetic mice. *Diab Vasc Dis Res.* 2017;14(3):246-253. doi: 10.1177/1479164117692766.
 13. Askari H, Seifi B, Kadkhodae M, Sanadgol N, Elshiekh M, Ranjbaran M, Ahghari P. Protective effects of hydrogen sulfide on chronic kidney disease by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis. *EXCLI J.* 2018;17:14-23. doi: 10.17179/excli2017-711.
 14. Sahach VF, Shymans'ka TV, Hoshovs'ka IuV. Effects of stimulation and blockade of the synthesis of endogenous hydrogen sulfide at myocardial ischemia-reperfusion. *Fiziol Zh.* 2013;59(4):8-15. PMID:24175471. [Ukrainian].
 15. Shymans'ka TV, Hoshovs'ka IuV, Semenikhina OM, Sahach VF. Effect of hydrogen sulfide on isolated rat heart reaction under volume load and ischemia-reperfusion. *Fiziol Zh.* 2012;58(6):57-66. PMID: 23530414. [Ukrainian].
 16. Drachuk K.O., Kotsjuruba A.V., Sagach V.F. Hydrogen sulfide donor, NaHS, recovers constitutive NO synthesis and endothelium-dependent relaxation of isolated aorta in old rats (PART I). *Fiziol Zh.* 2015; 61(6): 3-10. PMID: 27025039. [Ukrainian].
 17. Dorofeyeva NA, Kotsuruba AV, Mogilnitskaya LA, Malyna AE, Kornelyuk AI, Sagach VF. Endothelial monocyteactivating factor II cancels oxidative stress, constitutive NOS uncoupling and induced violations of cardiac hemodynamics in hypertension (PART II) *Fiziol Zh.* 2015; 61(3): 11-18. [Ukrainian]. PMID: 26495731.
 18. Tsai BM, Wang M, Clauss M, Sun P, Meldrum DR. Endothelial monocyte-activating polypeptide II causes NOS-dependent pulmonary artery vasodilation: a novel effect for a proinflammatory cytokine. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287(4):R767-71. DOI: 10.1152/ajpregu.00248.2004.
 19. Quevillon S, Agou F, Robinson JC, Mirande M. The p43 component of the mammalian multi-synthetase complex is likely to be the precursor of the endothelial monocyte-activating polypeptide II cytokine. *J Biol Chem.* 1997;272:32573-9. PMID: 9405472.
 20. van Horssen R, Eggermont AM, ten Hagen TL. Endothelial monocyte-activating polypeptide-II and its functions in (patho)physiological processes. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006;17(5):339-48. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2006.08.001
 21. Lee SW, Cho BH, Park SG, Kim S. Aminoacyl-tRNA synthetase complexes: beyond translation. *J Cell Sci* 2004;117:3725-34.
 22. Knies UE, Behrendorf HA, Mitchell CA, Deutsch U, Risau W, Drexler HC, et al. Regulation of endothelial monocyte-activating polypeptide II release by apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:12322-7. DOI:10.1242/jcs.01342.
 23. Liu SH, Gottsch JD. Apoptosis induced by a corneal-endothelium derived cytokine. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:3152-9. PMID:10586937.
 24. Yamamoto M, Fukushima T, Ueno Y, Hayashi S, Kimura H, Soma G, et al. Clinical significance of the expression of endothelial-monocyte activating polypeptide II (EMAP-II) in the treatment of glioblastoma with recombinant mutant human tumor necrosis factor-alpha (TNFSAM2). *Anticancer Res* 2000;20:4081-6. PMID:11131676.
 25. Wellings RP, Lash GE, Murray JC, Tas M, Ward W, Trew AJ, et al. Endothelial monocyte-activating polypeptide-2 is increased in pregnancy but is not further increased in preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest* 1999;6:142-6. PMID:10376270.
 26. Knies UE, Behrendorf HA, Mitchell CA, Deutsch U, Risau W, Drexler HC, Clauss M. Regulation of endothelial monocyte-activating polypeptide II release by apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:12322-7. PMID:9770485.
 27. Barnett G, Jakobsen AM, Tas M, Rice K, Carmichael J, Murray JC. Prostate adenocarcinoma cells release the novel proinflammatory polypeptide EMAP-II in response to stress. *Cancer Res.* 2000;60: 2850-7. PMID: 10850427
 28. Matschurat S, Knies UE, Person V, Fink L, Stoelcker B, Ebenebe C, Behrendorf HA, Schaper J, Clauss M. Regulation of EMAP II by hypoxia. *Am J Pathol* 2003;162:93-103. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63801-1
 29. Neely J., Liebermeister H., Battersby E. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated heart. *Am J Physiol.* 1967; 221:804-13. DOI:10.1152/ajplegacy.1967.212.4.804
 30. Sagach VF, Shymanskaya TV, Nadochiy SM. Factor released under heart reperfusion may be the marker of opening of the mitochondrial permeability transition pore. *Fiziol Zh.* 2003; 49(4): 7-13. PMID:14509922. [Ukrainian].
 31. Hoshovs'ka IuV, Korkach IuP, Shymans'ka TV, Kotsjuruba AV, Sahach VF. Effects of genipin on nitric oxide synthesis and oxidative stress development in ischemia-reperfusion of old rat hearts. *Fiziol Zh.* 2009;55(6):3-11. PMID:20201383. PMID: 20201383. [Ukrainian].
 32. Nadochiy SM, Nauduri D, Shimanskaya TV, Sagach VF, Brookes PS. Purine release: a protective signaling mechanism of the mitochondrial permeability transition pore in ischemia. *Fiziol Zh.* 2008; 54(6): 5-14. PMID: 19227234.
 33. Hoshovs'ka IuV, Shymans'ka TV, Rudyk OV, Korkach IuP, Sahach VF. Mitochondria permeability transition as a target for ischemic preconditioning. *Fiziol Zh.* 2011;57(4):34-45. PMID:22164407. [Ukrainian].

Матеріал надійшов до редакції 19.07.2018