

Донор монооксиду вуглецю та блокатори аквапоринових рецепторів зменшують ішемічно-реперфузійне ушкодження міокарда

С.П. Бесчасний, О.М. Гасюк

Херсонський державний університет; e-mail: beschasnyis@gmail.com

Досліджували метаболізм ізольованого серця миші під дією донора трикарбонілдіхлорорутенію-(II)-димера (CORM-2) та 2,3-4,5-біс-О-ізопропиліден-β-D-фруктопіранози сульфамату (топірамат) як потенційних блокаторів транспортного каналу аквапорину (AQP3) кардіоміоцитів. Результати порівнювали зі значеннями у тварин, які отримували анти-AQP3 моноклональні антитіла. Встановлено зниження коронарного потоку у період до ішемії (топірамат такої дії не спричиняв). Проте наприкінці реперфузії дія CORM-2 зумовлювала його стабілізацію. Ця сполука не впливала на споживання глюкози (дія топірамату посилювала лише наприкінці реперфузії), зниження депонування Ca^{2+} серцевим м'язом (подібний ефект мали AQP3-IgG-антитіла і топірамат), зменшення вивільнення креатиніну, аспартатамінотрансферази (особливо наприкінці реперфузії). Введення CORM-2 посилювало амплітуду зубця R перед ішемією та під час реперфузії, наприкінці реперфузії вона знижувалася. Вплив топірамату спричиняв підвищення амплітуди лише на початку реперфузії. Комплексна дія CORM-2, топірамату та антитіл подовжувала інтервал перед та під час ішемії. Водночас пригнічувався розвиток ішемічного ушкодження. Отримані результати вказують на те, що вивільнений CO з CORM-2 має подібні ефекти до анти-AQP3-антитіл. Дія топірамату була більше пов'язана з ознаками блокування кальцієвих каналів.

Ключові слова: аквапорини; AQP3; газотрансмітер; донор монооксиду вуглецю; CORM-2; ізольоване серце; топірамат.

ВСТУП

Молекули газоподібних речовин у організмі відіграють сигнальну роль, спричиняючи фізіологічні зміни, та беруть участь у адаптаційних процесах організму [1]. Частина з них, до яких і належить монооксид вуглецю (CO), утворюється ендемоно, у процесі метаболізму. Він продукується в організмі під час гемокатерезу за участю внутрішньоклітинного ферменту гемоксигенази (HO-1) [2]. Молекула CO невелика, вона вільно проходить крізь клітинні мембрани. Цікавим є те, що експресія HO-1 (ще має синонімічну назву «білок теплового шоку HSP-32») індукується запаленням або окисним стресом, локалізується переважно у клітинах печінки, селезінки, ендотелії судин, гладеньких м'язках. За нормальних

умов продукція CO в організмі сягає 20 мкмоль/год, підвищується при травмуванні, діабеті, вірусних інфекціях дихальних шляхів, метаболічному синдромі, астмі, муковісцидозі [3, 4].

Нині відомо, що молекулярні впливи CO пов'язані з такими сигнальними шляхами, як активація розчинної гуанілатциклази, відкриття Ca^{2+} -залежних калієвих каналів великої провідності, активація мітогенактивованої протеїнкінази та протеїнкінази B [5]. Разом з тим доведено, що CO стимулює вазорелаксацію за допомогою індукції NO-синтази. Беззаперечно, йому відведено важливу роль у процесі регуляції роботи серцево-судинної системи. Зокрема, CO блокує синтез ендотеліну-1, при окисному стресі може бути вазоконстриктором, по-

силює експресію фактора росту ендотелію судин (VEGF), у лабораторних мишей при тривалому вдиханні низьких концентрацій спричиняє ангіотензинзалежну гіпертонію. Хоча є повідомлення про сприятливий вплив стимуляції продукції СО за допомогою НО-1 під час лікування гіпертонії [6].

Оскільки існує проблема точного дозування газоподібного СО, останнім часом активно розробляються препарати на основі сполук-донорів (carbon monoxide releasing molecules, CORMs), які після потрапляння до організму розпадаються з вивільненням СО. Застосування трикарбонілдіхлорорутеній-(II)-димера (CORM-2) захищало печінку від ішемії під час реперфузії (посиленням експресії антиапоптотичного білка Bcl-2), серце (інгібуванням Ca^{2+} -каналів L-типу) та, відповідно, запобігало перевантаженню кальцієм. Сполуки-донори також проявили себе як потужні активатори ангіогенезу, а також як інгібітори прозапальних ферментів, вазодилатори. Вони знижували активацію тромбоцитів, зменшували ступінь окисного стресу, проявляли антиапоптотичні властивості [7, 8].

Згідно з попередніми нашими даними було сформовано гіпотезу про можливий вплив CORM-2 на аквапоринові рецептори [9]. Аквапорини (AQP) являють собою водні канали, які регулюють проникнення молекул води через клітинну мембрану. Вони беруть участь у транспорті води та гліцерину до клітини, у процесах ембріогенезу, ангіогенезу, онкогенезу [10, 11] і наявні в мембранах майже всіх клітин [12]. У більшості тканин ссавців виокремлено 13 видів AQP, які пов'язані з регуляцією водного балансу нирками, гомеостазом внутрішньомозкової рідини, метаболізмом тригліцеридів у адипоцитах, підтримкою структури кристалика [13]. Зовсім недавно серед групи аквапоринових рецепторів було виділено AQP3, який окрім води здатен транспортувати гліцерин та пероксид водню [14].

Відомо, що ішемічно-реперфузійне ушкодження супроводжується інтерстиціальним та клітинним набряком міокарда [15]. При цьому AQP забезпечують 2/3 транспорту води у кардіоміоцитах [16]. Під впливом ішемії у міокарді людини та миші спостерігається підвищення експресії AQP4, зокрема на ендотелії судин серця та клітинній мембрані кардіоміоцитів [17]. Можливим підтвердженням важливої ролі AQP у процесах ішемічного реперфузійного ушкодження є те, що міокард AQP4-нокаутних мишей більш стійкий до ішемічних ушкоджень [16].

Метою нашого дослідження було дослідити вплив донора СО та блокаторів аквапоринових каналів на метаболізм у ізольованому серці миші.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили із дотриманням Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту про захист тварин, що використовуються для наукових цілей та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Мишей-самців розподілили на 5 груп по 7 тварин у кожній. Тваринам 1-ї контрольної групи вводили фізіологічний розчин; 2-ї – CORM-2 у концентрації 25 мг/кг; 3-ї – внутрішньоочередово попередньо інактивованій (з якого було видалено СО) iCORM-2; 4-ї – за 8 год до експерименту внутрішньовенно анти-AQP3 кролячі моноклональні антитіла (8 мг/кг, AQP3-IgG, «Sigma-Aldrich», США, каталожний номер SAB5200111), які були попередньо розчинені у фізіологічному розчині; 5-ї – пер ос блокатор аквапоринових каналів 2,3-4,5-біс-О-ізопропиліден- β -D-фруктопіранози сульфат (топірамат, розчинений у фізіологічному розчині) в концентрації 25 мг/кг за 2 год до перфузії. Інактивацію CORM-2 проводили витриманням приготованого розчину в термостаті (37°C) протягом доби. Для покращення розчинення у фізіологічному

розчині його спочатку розводили у ДМСО (в отриманому розчині концентрація ДМСО не перевищувала 0,1%).

Ретроградну перфузію коронарних судин ізольованого серця мишей здійснювали в умовах постійного тиску (70 ± 2 мм рт. ст.) теплим ($+37^\circ\text{C}$) перфузійним розчином Кребса-Хензелейта (ммоль/л): NaCl – 118; KCl – 4,7; MgSO_4 – 1,2; KH_2PO_4 – 1,2; CaCl_2 – 2,5; глюкоза – 5,5; NaHCO_3 – 25. Перфузійний розчин (рН 7,2–7,4) постійно насичували карбогеном (95% O_2 і 5% CO_2). Перед початком вимірювань період стабілізації роботи серця становив 30 хв. Електричну активність серця досліджували у природному стані, штучну стимуляцію не проводили. Під час перфузії реєстрували електрограми серця електрокардіографом «МІДАС 6/12MINI» у II відведенні. Визначали об'ємну швидкість (ОШ) коронарного потоку вимірюванням об'єму, витікаючого з коронарних судин розчину (у мілілітрах за 1 хв). В отриманому перфузаті досліджували вміст глюкози, кальцію, креатиніну та аспартатамінотрансферази (АсАт) за допомогою набору реагентів НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Для з'ясування впливу досліджуваних сполук на ішемічне ушкодження міокарда, серця після реперфузії заморожували та

нарізали кільцями товщиною 1,5–2 мм і фарбували 2,3,5-трифенілтетразолієм хлористим, який розчиняли у фосфатному буфері з рН 7,4. Площу некротичних ділянок (які не зафарбовувалися у червоний колір) вимірювали за допомогою програми ImageJ та виражали у відсотках до загальної площі зрізу. Для досліджень використовували реагенти фірми «Sigma-Aldrich» (США). Періоди перфузії, ішемії та реперфузії тривали по 30 хв.

Статистичний аналіз результатів проводили із використанням програми Statistica 6.0, показники виражали у вигляді середнього значення і стандартного відхилення. Достовірність відмінностей визначали за критерієм Мана-Уїтні та Вілкоксона. Зміни вважалися вірогідними при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Досліджувані сполуки впливали на ОШ ізольованого серця (рис. 1). Перед початком ішемії ОШ збільшилася у 2,5 раза у тварин, яким вводили топірамат порівняно із вихідним значенням. Натомість у тварин, яким робили ін'єкцію AQP3-IgG-антитіл або CORM-2 спостерігалось зниження цього показника на 25%. Введення iCORM-2 такого ефекту не мало. На початку реперфузії ОШ

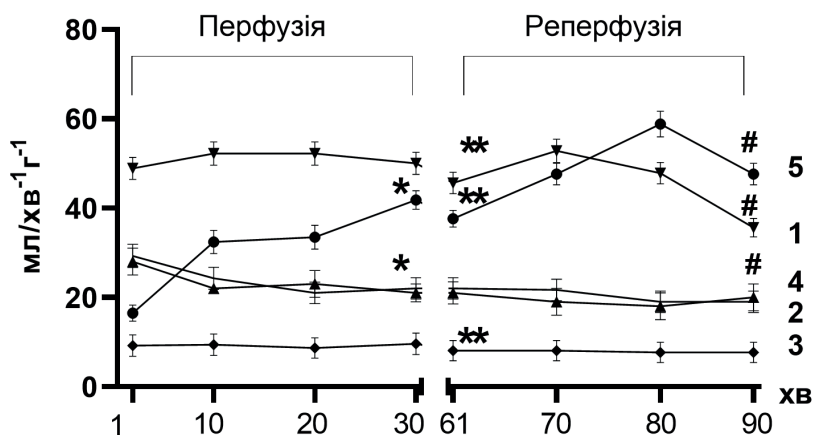


Рис 1. Динаміка об'ємної швидкості ізольованого серця під впливом досліджуваних сполук: 1 – контроль, 2 – CORM-2, 3 – iCORM-2, 4 – AQP3-IgG, 5 – топірамат. * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями на початку перфузії; ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями перед ішемією; # $P < 0,05$ порівняно зі значеннями на початку реперфузії

у контрольній групі зменшилася на 10% порівняно зі значеннями, отриманими перед ішемією, при введенні топірамату – на 9%, iCORM-2 – на 16%, у разі AQP3-IgG-антитіл та CORM-2 – змін не спостерігали. Наприкінці реперфузії ОШ у контрольній групі зменшилася на 25% щодо вихідних значень, у мишей, які отримували топірамат – на 22%, AQP3-IgG-антитіла – на 5%, CORM-2 – на 13%, iCORM-2 – лише на 5%.

Динаміка споживання глюкози ізольованим серцем після впливу досліджуваних сполук також мала свої відмінності. Перед ішемією у контрольній групі цей показник збільшувався на 33%, у початковий період реперфузії – на 36%, наприкінці реперфузії, навпаки, знизився на 63% відносно вихідного рівня (рис. 2, а). У групі тварин, які отримували CORM-2, достовірної зміни споживання глюкози перед ішемією та наприкінці реперфузії не спостерігали. Аналогічна ситуація була після введення AQP3-IgG-антитіл. Дія iCORM-2 перед ішемією посилювала споживання глюкози на 8%, наприкінці реперфузії – знижувалося на 9%, відразу після ішемії вміст глюкози не змінювався. Після впливу топірамату споживання глюкози міокардом пригнічувалося: перед ішемією – на 9%, відразу після ішемії – на 11%, наприкінці реперфузії – на 45%.

Вміст Ca^{2+} у перфузійному розчині, який відтікав від ізольованого серця, також мав певні відмінності (див. рис. 2, б). У контрольній групі перед ішемією депонування кальцію було знижене в 2,6 раза щодо вихідного значення. При порівнянні показників, отриманих на останній хвилині перед ішемією та на початку реперфузії, спостерігалось збільшення депонування кальцію у міокарді на 97%. Наприкінці реперфузії поглинання не лише знижувалося, а й відбувалося вивільнення із кардіоміоцитів Ca^{2+} , про що свідчить підвищення його вмісту в перфузійному розчині у 12 разів. У тварин, які отримували CORM-2, перед ішемією поглинання Ca^{2+} знизилося в 1,9 раза (94%).

На початку реперфузії засвоєння Ca^{2+} збільшилося на 41%, наприкінці – на 26%. У групі тварин, які отримували iCORM-2, у період перед ішемією вміст Ca^{2+} у перфузійному розчині збільшувався в 2,3 раза. У першу хвилину реперфузії відмічали поглинання Ca^{2+} кардіоміоцитами, оскільки його вміст у розчині знизився на 10% порівняно з показниками, отриманими у період перфузії перед початком ішемії. Наприкінці реперфузії вміст Ca^{2+} знизився на 63%. При введенні AQP3-IgG-антитіл було отримано результати, подібні зі значеннями тварин, які отримували CORM-2. У період перед ішемією вміст Ca^{2+} у перфузійному розчині збільшився. У першу хвилину реперфузії відзначали поглинання Ca^{2+} кардіоміоцитами, оскільки його вміст у розчині знизився на 39% порівняно зі значеннями, отриманими перед початком ішемії. Наприкінці реперфузії вміст Ca^{2+} знизився на 27%. Ефект топірамату був схожим до CORM-2: у період перед ішемією вміст Ca^{2+} у перфузійному розчині збільшився на 57%, у першу хвилину реперфузії – знизився на 66%. Наприкінці реперфузії він збільшився у 3,9 раза, що збігається зі значеннями контрольної групи.

Вміст креатиніну у контрольній групі в період перед ішемією був знижений на 22% (див. рис. 2, в). На початку реперфузії він збільшився на 4% відносно періоду до ішемії, наприкінці реперфузії – на 12%. У групі тварин, які отримували CORM-2, перед ішемією вміст креатиніну був знижений на 3%, на початку реперфузії (після ішемії) він підвищився на 18%, наприкінці реперфузії знизився на 2%. У тварин, яким вводили iCORM-2, вміст креатиніну у розчині перед ішемією знизився на 15%, на початку реперфузії – на 3%, проте, наприкінці реперфузії він збільшився на 16%. Введення AQP3-IgG-антитіл показало також незначне (3%) зниження вмісту креатиніну перед ішемією, підвищення на 19% – на початку реперфузії та зниження на 2% наприкінці реперфузії. Після введення топірамату

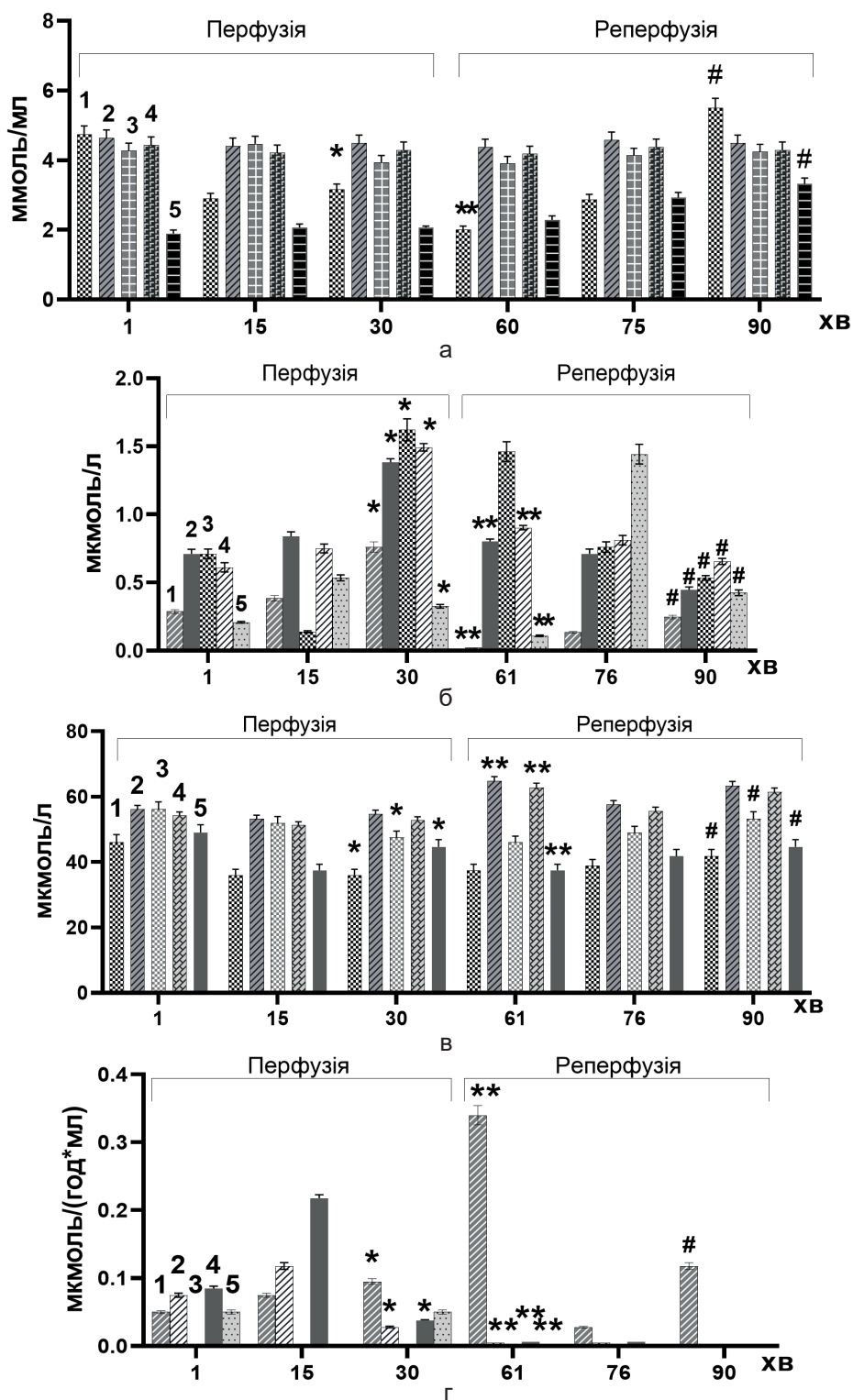


Рис 2. Вплив попереднього введення блокаторів аквапоринових каналів на вміст глюкози (а), кальцію (б), креатиніну (в), аспартатамінотрансферази (г) у перфузійному розчині, який відтік від ізолюваного серця; 1 – контроль, 2 – CORM-2, 3 – iCORM-2, 4 – AQP3-IgG, 5 – топірама. *P < 0,05 порівняно зі значеннями на початку перфузії; **P < 0,05 порівняно зі значеннями перед ішемією; #P < 0,05 порівняно зі значеннями на початку реперфузії

він знизився на 9% перед ішемією, на 16% – на початку реперфузії. Проте наприкінці реперфузії вміст креатиніну збільшився на 19%.

Динаміка вмісту АсАт у досліджуваних групах дещо відрізнялася (див. рис. 2, г). У контрольній групі перед ішемією цей показник збільшився аж на 90% від вихідного рівня, на початку реперфузії – на 258%, а наприкінці реперфузії зменшився на 68%. У тварин, які отримували CORM-2, вміст АсАт перед ішемією знизився на 62%, відразу після неї (на початку реперфузії) – на 82%, наприкінці реперфузії активність АсАт взагалі була відсутня. Схожий ефект спостерігався у тварин, які отримували AQP3-IgG-антитіла: перед ішемією вміст АсАт знизився на 55%, на початку реперфузії – на 84%, наприкінці реперфузії АсАт не було виявлено. Разом з тим введення топірамату не спричиняло вивільнення АсАт у перфузійний розчин.

Цікавими виявилися результати, отримані при дослідженні електрокардіографічних параметрів ізолюваного серця. У контрольній групі амплітуда зубця R перед ішемією знизилася на 28%, у період ішемії – на 92% (рис. 3). При цьому на початку реперфузії вона збільшилася у 18 разів (відносно значень наприкінці ішемії), наприкінці реперфузії – лише вдвічі. У тварин, яким вводили CORM-2, навпаки, перед ішемією амплітуда зубця R збільшилася у 4,5 раза, а за період ішемії зменшилася на 89%. На початку реперфузії

вона підвищилася у 27 разів (відносно показника, отриманого наприкінці ішемії), під кінець реперфузії – знизилася на 64%.

У разі введення iCORM-2 збільшився вольтаж зубця R під час ішемії на 42%. На початку реперфузії амплітуда знизилася на 70%, а наприкінці збільшилася в 2,7 раза. Введення AQP3-IgG перед ішемією спричиняло підвищення амплітуди зубця R у 2,9 раза, у період ішемії – зменшення в 9 разів. На початку реперфузії вона підвищилася у 24 рази порівняно з вихідним значенням (наприкінці ішемії), проте, наприкінці реперфузії – знизилася на 60%. У тварин, яким вводили топірамат під час ішемії, амплітуда зубця R знизилася в 4 рази, у період початку реперфузії збільшилася у 2,8 раза (відносно вихідного значення), наприкінці – знизилася на 7%.

Отримані результати вказують на неоднаковий вплив досліджуваних препаратів на тривалість інтервалу R-R. У контрольній групі вона перед та під час ішемії коливалася в межах 5% (рис. 4). На початку реперфузії інтервал збільшився на 82% (порівняно з показниками наприкінці ішемії), наприкінці – на 11%. У тварин, які отримували CORM-2, перед ішемією інтервал R-R збільшився в 4,6 раза, у період ішемії – на 36%. На початку реперфузії інтервал скоротився на 89%, проте подовжився у 5,8 раза наприкінці. У разі введення iCORM-2 перед ішемією інтервал

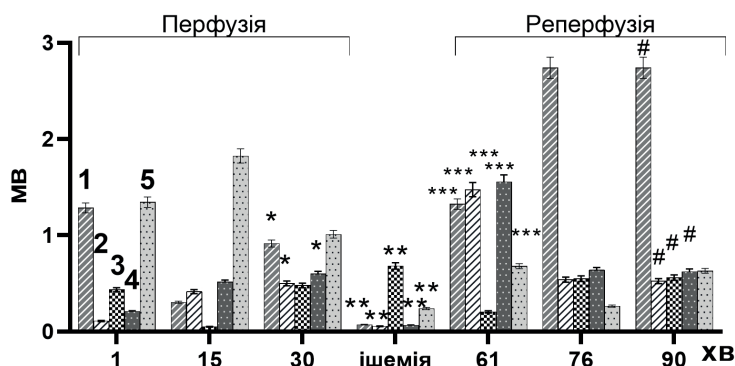


Рис 3. Амплітуда зубця R після введення блокаторів AQP3: 1 – контроль, 2 – CORM-2, 3 – iCORM-2, 4 – AQP3-IgG, 5 – топірамат. *P < 0,05 порівняно зі значеннями на початку перфузії; **P < 0,05 порівняно зі значеннями перед ішемією; ***P < 0,05 порівняно зі значеннями під час ішемії; #P < 0,05 порівняно зі значеннями на початку реперфузії

збільшився на 58%, а під час ішемії – у 2,9 рази, на початку реперфузії – зменшився на 49%, наприкінці – знову подовжився на 10%. Дія AQP3-IgG-антитіл перед ішемією подовжила інтервал у 5 разів, у період ішемії – на 38%, на початку реперфузії – на 90%, проте, наприкінці реперфузії він скоротився у 6 разів. У групі тварин, яким вводили топірамат, перед ішемією інтервал R-R збільшився на 46%, під час ішемії скоротився на 40%, на початку реперфузії несуттєво (8%) збільшився, а наприкінці подовжився на 62%. Наприкінці реперфузії, порівняно з контролем, ступінь розвитку інфаркту в групах різнився: введення CORM-2 знижувало його на 18,8%, AQP3-IgG-антитіл – на 17%, топірамату – на 21,5%. Водночас введення iCORM-2 не показало якихось достовірних відмінностей (див. рис.4).

Отже, отримані результати показали, що СО, який вивільняється із донора CORM-2, впливає на роботу ізольованого серця. Механізм його дії опосередкований впливом на AQP3-канали, оскільки зареєстровані зміни були подібними до таких, які спостерігалися після введення AQP3-IgG-антитіл. Результати узгоджуються з даними, отриманими на еритроцитарній моделі [9].

Таким чином, дія CORM-2 спричиняла зниження ОШ коронарного потоку до ішемії на чверть, що збігається зі значеннями, отри-

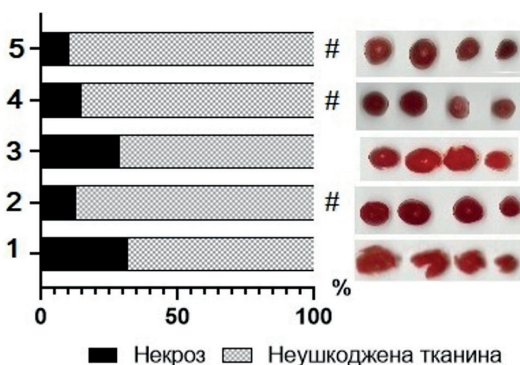


Рис 4. Вплив досліджуваних сполук на ступінь розвитку некрозу після ішемії-реперфузії ізольованого серця миші; 1 – контроль, 2 – CORM-2, 3 – iCORM-2, 4 – AQP3-IgG, 5 – топірамат; #P < 0,05 порівняно з контролем

маними після введення AQP3-IgG-антитіл. При введенні топірамату такого впливу не спостерігали. Проте дія CORM-2 стабілізувала коронарний потік (порівняно з контролем коронарний потік не знижувався) наприкінці реперфузії. Він також призводив до незначного збільшення споживання глюкози, як і у разі введення AQP3-IgG-антитіл. Внутрішньоочеревинне введення iCORM-2 також незначно збільшувало споживання глюкози порівняно з контролем. Подібна ситуація спостерігалася й після застосування топірамату, хоча тут споживання глюкози збільшилося наприкінці реперфузії. Вплив CORM-2 спричиняв зниження депонування Ca^{2+} серцевим м'язом. Аналогічний ефект спостерігався після введення як AQP3-IgG-антитіл, так і топірамату.

Вивільнення креатиніну, який бере участь в енергетичному обміні м'язових клітин, було знижене при введенні CORM-2 і AQP3-IgG-антитіл. Оскільки креатин являє собою депо макроергічних зв'язків, це може вказувати на швидкий ресинтез АТФ, та, відповідно, кращу витривалість за умов гіпоксії [18]. Зазначене узгоджується зі збільшенням споживання глюкози, оскільки креатин здатен активувати гліколіз.

Після впливу CORM-2 виявлено ефект зниженого вивільнення АсАт, особливо наприкінці реперфузії. Подібний результат отримано і після введення AQP3-IgG-антитіл. Цей фермент перебуває у цитоплазмі та мітохондріях, особливо у м'язовій тканині. Він відіграє визначальну роль у глюконеогенезі, під час періоду голодування або посилення фізичних навантажень. Його вивільнення із тканин є маркером ушкодження цитоплазматичної мембрани [2]. У нашому випадку цього не спостерігалося. Зазначені зміни вказують на вплив досліджуваних сполук на функціональний стан мітохондрій, що потребує подальшого дослідження.

Деякі електрофізіологічні показники роботи серця під впливом донора СО відрізнялися від контролю. Зокрема, дія CORM-2

посилювала амплітуду зубця R перед ішемією та під час реперфузії, а наприкінці реперфузії знижувала. Подібні ефекти були і у групі тварин, яким вводили AQP3-IgG-антитіла. Дія топірамату призводила до посилення амплітуди лише на початку реперфузії. Після введення CORM-2, топірамату та AQP3-IgG-антитіл інтервал R-R подовжувався перед та у період ішемії.

Важливим ефектом дії блокаторів аквапоринів є те, що попереднє введення CORM-2, AQP3-IgG-антитіл та топірамату затримувало розвиток ішемічного ураження, про що свідчить порівняння розмірів площі зони інфаркту зрізів серця із контролем. Слід відмітити, що CO з CORM-2 впливає на AQP3-канали, топірамат проявляв менш виражені властивості, пов'язані із їх блокуванням. Отримані результати мають важливе значення, адже розширюють уявлення про вплив CO з CORM-2 на транспорт через AQP3-канали, які відіграють важливу роль у функціонуванні мітохондрій [19, 20].

ВИСНОВКИ

1. Дія CORM-2, так само як і AQP3-IgG-антитіл, знижувала ОШ ізольованого серця миші, топірамату – посилювала.

2. Впливу CORM-2 та AQP3-IgG-антитіл на споживання глюкози міокардом не спостерігали. Введення CORM-2, iCORM-2, AQP3-IgG-антитіл та топірамату пригнічувало поглинання Ca^{2+} міокардом, особливо у період реперфузії (що вказує на їх здатність взаємодіяти з кальцієвими каналами); вони знижували вихід креатиніну, топірамат проявляв такі властивості лише на початку реперфузії. Введення CORM-2 знижувало вивільнення АсАт подібно AQP3-IgG-антитіл, топірамату – лише у період перфузії.

3. Введення CORM-2 та AQP3-IgG-антитіл впливало на деполяризацію шлуночків: протягом перфузії посилювали амплітуду зубця R, наприкінці реперфузії – послаблювали; топірамат знижував амплітуду впродовж реперфузії. Вони подовжували

інтервал між зубцями R та зменшували площу ішемічного ушкодження міокарда.

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 co-authors of the article.

S.P. Beschasnyi, O.M. Hasiuk

THE CARBON MONOXIDE DONOR, TOPIRAMATE, AND BLOCKERS OF AQUAPORINE RECEPTORS DECREASE MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

Kherson State University; e-mail: beschasnyi@gmail.com

We investigated the metabolism of mouse isolated heart under the influence of tricarbonyldichlororuthenium (II)-dimer (CORM-2 and 2,3-4,5-bis-O-isopropylidene- β -D-fructopyranose sulfamate (topiramate) as potential blockers of aquaporine channel (AQP3) of cardiac myocytes. The results were compared with those obtained from the group receiving anti-AQP3 monoclonal antibodies. A decrease in coronary flow was found during the period preceding ischemia (topiramate did not cause this effect). However, at the end of reperfusion, CORM-2 was responsible for its stabilization. This compound did not affect glucose intake (topiramate increased it only at the end of reperfusion), decreased Ca^{2+} deposition in cardiac muscle (AQP3-IgG antibodies and topiramate had similar effect), decreased creatinine release, AST (especially at the end of reperfusion). The action of CORM-2 increased the amplitude of the R waveform before ischemia and during reperfusion. At the end of reperfusion the R-wave amplitude decreased. The effect of topiramate caused an increase in amplitude only at the beginning of reperfusion. Administration of CORM-2, topiramate and antibodies resulted in prolongation of the interval before and during ischemia. At the same time, the effect of these drugs and antibodies reduced the development of ischemic damage. The results indicate that the released CO from CORM-2 has effects similar to those of anti-AQP3 antibodies. The action of topiramate had signs of calcium channel blocking.

Key words: aquaporins; AQP3; gas-transmitter; carbon monoxide donor; CORM-2; isolated heart; topiramate.

REFERENCES

1. Sagach VF, Dorofeyeva NA, Drachuk KO. Contribution of hydrogen sulfide to cardio-vascular function restoration in old rats. *J Mol Cell Cardiol.* 2018;120:35.
2. Panneerselvam L, Raghunath A, Perumal E. Differential expression of myocardial heat shock proteins in rats acutely exposed to fluoride. *Cell Stress Chaperones.* 2017;22:743-50.
3. Ling K, Men F, Wang WC, Zhou YQ, Zhang HW, Ye DW. Carbon monoxide and its controlled release: therapeutic application, detection, and development of carbon monoxide releasing molecules (CORMs) miniperspective. *J Med Chem.* 2017;61(7):2611-35.
4. Queiroga CS, Almeida AS, Alves PM, Brenner C, Vieira HL Carbon monoxide prevents hepatic mitochondrial membrane permeabilization. *BMC Cell Biol.* 2011;12:1-8.
5. Beschasnyi S, Hasiuk O. CO-releasing molecule (CORM-2) in the regulation of Ca^{2+} -dependent K^{+} -permeability of erythrocyte. *Ukr Zh Med Biol Sportu.* 2020;5(2),166-71.
6. Kukoba TV, Moybenko OO, Kotsjuruba AV. Cardioprotective effect of heme oxygenase-1 induction by hemin on the isolated heart of rat at ischemia/reperfusion. *Fiziol Zh.* 2003;49(6):14-21. [Ukrainian].
7. Johnson TE, Wells RJ, Bell A, Nielsen VG, Olver CS. Carbon monoxide releasing molecule enhances coagulation and decreases fibrinolysis in canine plasma exposed to *Crotalus viridis* venom in vitro and in vivo. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2019;125(4):328-36.
8. Motterlini R, Foresti R. Biological signaling by carbon monoxide and carbon monoxide-releasing molecules. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2017;312(3):302-13.
9. Beschasnyi SP, Hasiuk OM. The effect of carbon monoxide's donor CORM-2 on erythrocyte aquaporins. *World Med Biol.* 2021;17(76):167-73.
10. Ikarashi N, Aburada T, Kon R, Sugiyama K. Water control mechanism of byakkokaninjinto and its active components via aquaporins. *Traditional Kampo Med.* 2019;6(2):57-61.
11. Ma T, Hara M, Sougrat R, Verbavatz JM, Verkman AS. Impaired stratum corneum hydration in mice lacking epidermal water channel aquaporin-3. *J Biol Chem.* 2002;277:17147-53.
12. Verkman AS, Anderson MO, Papadopoulos MC. Aquaporins: important but elusive drug targets. *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(4):259-77.
13. Kitchen P, Day RE, Salman MM, Conner MT, Bill RM, Conner AC. Beyond water homeostasis: Diverse functional roles of mammalian aquaporins. *Biophys Acta Gen Subj.* 2015;1850(12):2410-21.
14. Bollag WB, Aitkens L, White J, Hyndman KA. Aquaporin-3 in the epidermis: more than skin deep. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2020;318(6):C1144-53.
15. Rutkovsky A, Stenslokken KO, Kaljusto M-L, Hafstad A, Larsen T, Vaage J. Degree of phosphorylation of survival kinases in isolated mouse hearts depends on the mode of perfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;44:809.
16. Abir-Awan M, Kitchen P, Salman MM, Conner MT, Conner AC, Conner AC, Bill RM. Inhibitors of mammalian aquaporin water channels. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7):1589.
17. Butler TL, Au CG, Yang B, Egan JR, Tan YM, Hardeman EC, Winlaw DS. Cardiac aquaporin expression in humans, rats, and mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291(2):H705-13.
18. Kazory A, Ronco C. Are we barking up the wrong tree? Rise in serum creatinine and heart failure. *Blood Purif.* 2019;48(3):193-5.
19. Alyasin A, Momeni HR, Mahdich M. Aquaporin 3 expression and the potential role of aquaporins in motility and mitochondrial membrane potential in human spermatozoa. *Andrologia.* 2020;52(6):e13588.
20. Takashi Y, Tomita K, Kuwahara Y, Roudkenar MH, Roushandeh AM, Igarashi K, Sato T. Mitochondrial dysfunction promotes aquaporin expression that controls hydrogen peroxide permeability and ferroptosis. *Free Radic Biol Med.* 2020;161:60-70.

*Матеріал надійшов
до редакції 17.08.2021*