

Ю.В. Гошовська, Т.В.Шиманська, В.Ф.Сагач

Застосування геніпіну – інгібітора роз'єднувальних білків –пригнічує захисний ефект ішемічного прекодиціювання

Функціональне значення роз'єднувальних білків UCP2 і UCP3 у клітині і організмі залишається невивчені і нині. З'явилися повідомлення про їх участь у клітинних механізмах захисту, що лежать в основі феномена ішемічного прекодиціювання. Метою нашої роботи було з'ясування ролі роз'єднувальних білків UCP2 і UCP3 у формуванні кардіопротекторного ефекту ішемічного прекодиціювання. В експериментах на ізольованих серцях щурів було показано збільшення рівня експресії генів UCP2 і UCP3 у тканинах серця як під впливом ішемічного прекодиціювання у вигляді трьох 5-хвилинних епізодів зупинки перфузії, так і тривалої ішемії-реперфузії міокарда. Блокада активності UCP2 геніпіном ("Wako Inc.", США, 10^{-5} моль/л, перфузія ізольованого серця протягом 15 хв) пригнічувала захисний ефект адаптації до ішемії. Зроблено висновок, що роз'єднувальні білки беруть активну участь у формуванні кардіопротекторного ефекту ішемічного прекодиціювання.

Ключові слова: ізольоване серце, роз'єднувальні білки UCP2 і UCP3, геніпін, ішемічне прекодиціювання.

ВСТУП

Група транспортних протеїнів, які вбудовані у внутрішню мембрану мітохондрій і здатні впливати на мембранний потенціал, відомі під назвою роз'єднувальних білків окисного фосфорилування (UCP, від англ. uncoupling proteins). Функціональне значення цих білків у клітині і організмі в цілому широко дискутується і залишається не зрозумілим і нині. Факти вказують на участь білків UCP у клітинних механізмах захисту від впливу активних форм кисню (АФК), зокрема при ішемії-реперфузії [2]. Здатність UCP активуватися під дією АФК відповідає більш раціональному витрачання енергії в клітині.

Ішемічне прекодиціювання (ІП) залишається найпотужнішим методом кардіопротекції від реперфузійних порушень. Толерантність до ішемії, що викликається ІП, характеризується в першу чергу гальмуванням утворення великої кількості АФК

[1, 4]. Активація аденіннуклеотидтранслокази (АНТ), збільшення транспорту вільних жирних кислот і «м'яке роз'єднання» встановлені серед мітохондріальних механізмів ІП [10]. Кардіопротекторний ефект адаптації до ішемії багато в чому зумовлюється станом біоенергетики серця. Ми припускаємо, що активація протонопровідної активності UCP, яка може запобігати надмірній продукції АФК дихальним ланцюгом, є одним із захисних шляхів ІП [8, 11].

Метою нашої роботи було з'ясування участі UCP у реалізації механізмів кардіопротекторного впливу ІП.

МЕТОДИКА

Експерименти виконували на дорослих самцях щурів лінії Вістар віком 6 міс, масою 300–350 г з дотриманням вимог Європейської конвенції щодо роботи з експериментальними тваринами (Страсбург, 1986).

© Ю.В. Гошовська, Т.В.Шиманська, В.Ф.Сагач

Перфузію коронарних судин здійснювали ретроградно (за методом Лангендорфа в умовах постійного тиску 75–80 мм рт.ст.) при 37°C і аерації карбогеном (95 % O₂ і 5 % CO₂) розчином такого складу (ммоль/л): NaCl – 118; KCl – 4,7; MgSO₄ – 1,2; NaHCO₃ – 24; KH₂PO₄ – 1,2; глюкоза – 10; CaCl₂ – 2,5. Тиск у порожнині лівого шлуночка (ТЛШ), його першу похідну dP/dt_{max} і dP/dt_{min} , кінцевий діастолічний тиск (КДТ) вимірювали за допомогою латексного балончика тензодатчиками 746 (Мингограф-82, “Elema”, Швеція) і реєстрували на комп’ютері за допомогою програмного забезпечення Global Lab. 2.0. Розраховували частоту серцевих скорочень (ЧСС), інтенсивність скоротливої функції серця (ТЛШ . ЧСС). Коронарний потік оцінювали за об’ємом перфузійного розчину, якій відтікав від серця протягом 1 хв.

Для розрахунку споживання кисню міокардом за допомогою газоаналізатора BMS 3 Mk-2 Radiometer (“Elema”, Швеція) реєстрували напруження кисню у пробах перфузійного розчину, що притікав і відтікав від серця. Кисневу вартість роботи серця виражали як співвідношення споживання кисню до інтенсивності скоротливої функції серця.

Адаптацію до ішемії здійснювали за допомогою 3 сеансів тотальної 5-хвилинної ішемії, розділених 5-хвилинними періодами реперфузії. Ішемію міокарда моделювали припиненням перфузії серця на 20 хв. Реперфузію спостерігали протягом 40 хв.

Вивільнення мітохондріального фактора, що є маркером відкривання МП в експериментах *in situ* [6, 19], визначали за зростанням оптичної густини розчинів, що відтікали від серця до ішемії та на 1-й хвилині реперфузії. Оптичну густину проб вимірювали в ультрафіолетовому спектрі в діапазоні довжини хвилі 230–260 нм спектрофотометром СФ-46.

Геніпін (“Wako Inc.”, США) вводили у перфузійний розчин у концентрації 10⁻⁵ моль/л протягом 15 хв перед початком ІІІ.

Експресію генів UCP2 і UCP3 визначали в зразках тканин серця в таких серіях: 1 – контроль (n=5); 2 – ішемія–реперфузія (n=6); 3 – ІІІ і ішемія–реперфузія (n=8); 4 – ІІІ (n=6). Контрольні серця перфузували протягом години без жодних впливів. Верхівку серця щурів відрізували і одразу використовували для виділення РНК за допомогою реагенту Trizol (“Sigma”, США). Зворотну транскрипцію проводили за допомогою набору RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (“Fermentas”, Литва), використовуючи 300–600 нг тотальної РНК і рандомний гексамерний праймер. Отриману одноланцюгову ДНК застосовували для полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для ампліфікації фрагментів генів UCP2 і UCP3 [23], а також фрагмент гена GADPH (гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази) як внутрішній контроль. Послідовність нуклеотидів у праймерах: прямий – 5’-TCATCAAAGATACTCTCCTGAAAGC-3’, зворотний – 5’-TGACGGTGGTGCAGAAGC-3’ для гена UCP2; прямий – 5’-GTGACSTATGACATCATCAAGGA-3’, зворотний – 5’-GCTCCAAAGGCA GAGACAAAG-3’ для гена UCP3; прямий – 5’-GGGTGTGAACCACGAGAAAATATGA-3’, зворотний – AGCACCAGTGGATG CAGGGGATGAT-3’ для гена GADPH. Суміш для ампліфікації містила 5 мкл 5-кратного ПЛР-буфера, 1,5 ммоль/л сульфату магнію, 200 мкмоль/л суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 30 пмоль/л кожного з праймерів (“Metabion“, Німеччина), 0,5 Од Таq-полімерази (“Ампли-Сенс”, Росія) і ДНК-матрицю, отриману в результаті зворотної транскрипції. Об’єм проби доводили до 25 мкл дейонізованою водою. ПЛР проводили в термоциклері GeneAmp System 2700” (“Applied Biosystems”, США). Ампліфікація фрагментів вказаних генів складалася з 35 циклів: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 58°C (1 хв) і елонгація – 72°C (1 хв). Візуалізацію і оцінку яскравості ампліфікатів після горизонтального елект-

рофорезу (150 В протягом 30 хв) в 1,5%-му агарозному гелі з бромідом етидію, проводили за допомогою транслюмінатора і програмного забезпечення ViTran (“Биоком”, Росія). Розраховували відношення яскравості ампліфікатів генів UCP до GADPH.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою Microsoft Excel з використанням методу різниць. Усі результати виражали у вигляді середнього \pm стандартне відхилення. Достовірність змін показників розраховували за допомогою критерію t Стьюдента, достовірними вважали зміни при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що ІП ефективно запобігало розвитку важких реперфузійних порушень функції ізольованого серця і виникненню фібриляцій, підвищувало ефективність роботи дихального ланцюга мітохондрій кардіоміоцитів і використання кисню міокардом [4]. Серед можливих захисних механізмів, що включаються при ІП, розглядають стимуляцію експресії низки протекторних генів, до числа яких зокрема можна зарахувати індукцибельну NO-синтазу [7]. Беручи до уваги участь UCP

у формуванні захисних механізмів клітини для протистояння окисному стресу, ми визначали за допомогою ПЛР зміни експресії генів UCP2 і UCP3 у серцях щурів після впливу короткочасних ішемічних епізодів або тривалої ішемії–реперфузії без і на фоні ІП (рис. 1, 2). Встановлено, що при адаптації серця до ішемії спостерігалася стійка тенденція до підвищення експресії генів UCP, а тотальна 20-хвилинна ішемія міокарда призводила до достовірного збільшення співвідношення UCP2/GADPH і UCP3/GADPH відносно вихідного рівня їх експресії. До 40-ї хвилини реперфузії коронарних судин експресія мРНК досліджуваних генів мала тенденцію до подальшого зростання і становила $127 \pm 7,5$ і $133 \pm 1,0\%$ відповідно порівняно з їх базовим рівнем. Таким чином, результати наших експериментів свідчили про стимулювальний ефект ішемії–реперфузії на експресію генів UCP2 і UCP3, що підтверджувалося даними Murray і співавт. [18], які спостерігали підвищення експресії білка UCP3 у щурів у відповідь на тривалу коронарооклюзію. Ми вважаємо, що запуск клітиною експресії генів UCP мав захисний характер, оскільки показано, що активація UCP супроводжується зменшенням продукції вільних радикалів [9]. Встановлений

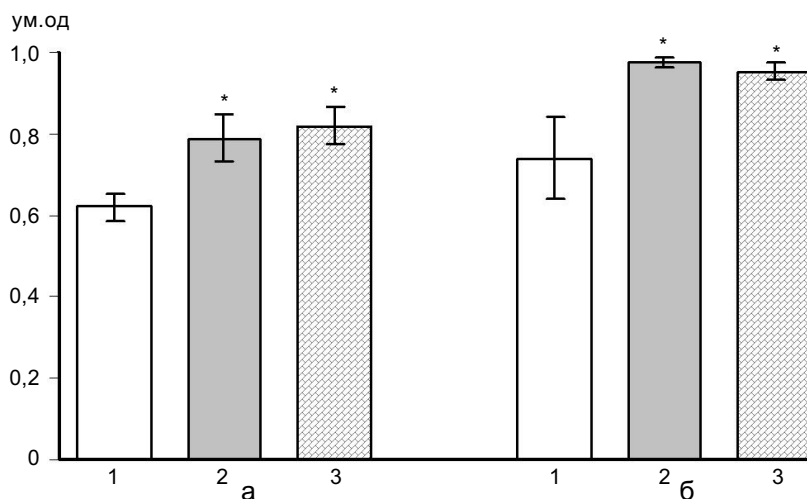


Рис. 1. Відносні рівні експресії мРНК UCP2/GADPH (а) і UCP3/GADPH (б) у серці щурів у контролі (1), після ішемії–реперфузії без (2) і на фоні ішемічного прекодиціювання (3). * $P < 0,05$ відносно контролю

нами факт підвищення експресії генів UCP2 і UCP3 внаслідок короточасних ішемічних стимулів міокарда цілком узгоджується з повідомленням про зростання в нейронах гіпокампа вмісту білка UCP2 після ІП, яке супроводжувалося великим відсотком виживання клітин за дії наступної ішемії [16]. Таким чином, підвищення експресії генів UCP2 і UCP3 під впливом як короточасних стимулів, так і тривалої ішемії дає нам змогу вважати, що UCP задіяні у захисному механізмі клітини при її протистоянні ішемії–реперфузії.

Для з'ясування фізіологічної ролі UCP у підвищенні стійкості міокарда щурів до ішемії–реперфузії і участі їх в механізмі ІП, ми здійснювали блокаду активності UCP2 за допомогою геніпіну. Геніпін – компонент геніпозиду – сполуки, виділеної з екстракту плодів *Gardenia jasminoides* Ellis, який з давніх пір активно використовувався у народній медицині як протизапальний, антигіпертензивний засіб [21]. Існують свідчення, що геніпін проявляє антиоксидантні властивості [14], його з успіхом використовують при діабеті [22], який характеризується розвитком глибокого окисного стресу. З іншого боку, в експериментах на мітохондріях нокаутних за геном UCP2 тварин доведено, що геніпін інгібує UCP2-залежний протонний потік, але не є при цьому скавенджером супероксидного

радикала [24]. Саме такі властивості геніпіну роблять його важливим інструментом вивчення функції UCP.

Введення в перфузійний розчин геніпіну скасовувало захисний вплив ІП на розвиток реперфузійних порушень функції серця (рис. 3). На відміну від серії з ІП спостерігали істотне пригнічення функціонального стану серця на 10-й хвилині реперфузії: ТЛШ становив лише $37,0\% \pm 17,1\%$ щодо $82,5\% \pm 8,8\%$ у серії з ІП ($P < 0,05$) і $32,5\% \pm 7,9\%$ у контрольній серії, скорочувальна активність міокарда була 37% , а в серії без геніпіну її відновлення сягало більше ніж 80% . Отже, характер реакції сердець на відновлення потоку перфузії в серії з ІП на фоні введення геніпіну був схожий з таким у контрольній серії. Оскільки блокада активності UCP геніпіном істотно зменшувала захисний вплив ІП ми дійшли висновку, що ці білки беруть активну участь у реалізації такого механізму.

Для підтвердження цього висновку ми перевіряли вплив геніпіну на реакцію серця при ішемії–реперфузії. Якщо останній має потужні антиоксидантні властивості [14], він повинен інгібувати утворення мітохондріальних пор при ішемії–реперфузії і, відповідно, покращувати відновлення функціонального стану серця. Тобто феномен ІП можна імітувати за допомогою вибіркового фармакологічного впливу на серце.

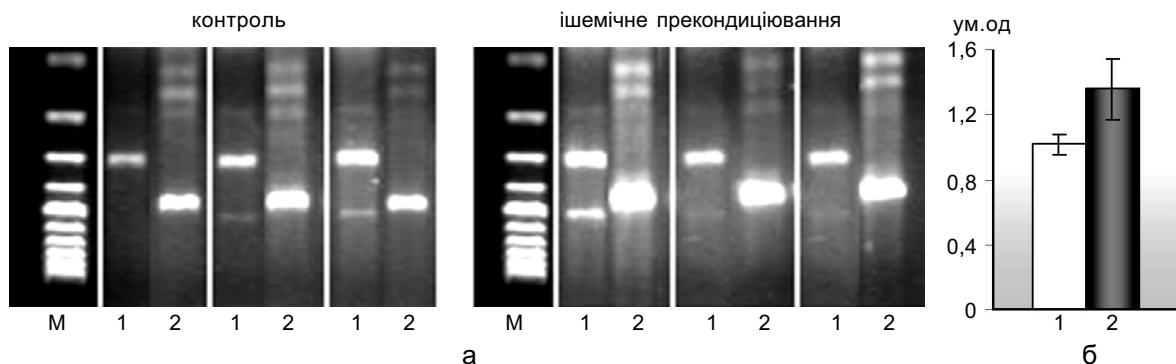


Рис. 2. Результати електрофорезу (а) ампліфікованих фрагментів генів GADPH (1) і UCP3 (2). Гистограма усереднених результатів (б) відносних рівнів експресії мРНК UCP3/GADPH у контролі (1) і після ішемічного прекодиціювання (2)

Зіставлення ступеня реперфузійних порушень функції серця тварин без і на фоні застосування геніпіну свідчило про відсутність істотних відмінностей у реакції серця. Виключенням був КДТ, який на 10-й хвилині реперфузії становив 31,0 мм рт.ст. \pm 4,0 мм рт.ст., а в контрольній серії – 6,0 мм рт.ст. \pm 4,4 мм рт.ст. ($P < 0,001$), до кінця спостереження достовірної різниці у його значенні не спостерігалось. Ін’єкція геніпіну певним чином також покращувала кисневий обмін серця: киснева вартість його роботи на 40-й хвилині реперфузії збільшувалася лише до 125% \pm 11% щодо 153% \pm 13% у контрольних тварин. Однак цього було недостатньо для істотного відновлення функ-

ціонального стану серця в цілому у період реперфузії.

При однаковій амплітуді підйому кривої на $\lambda = 250$ нм, яка відображає ступінь вивільнення мітохондріального фактора і проникність мітохондріальних мембран, оптична густина розчину, що відтікав від ізолюваного серця щурів у першу хвилину реперфузії в експериментах з застосуванням геніпіну достовірно перевищувала таку у контрольній серії (рис. 4). Останнє свідчило, що геніпін не проявляв властивостей інгібітора мітохондріальних пор, характерних для відомих антиоксидантів тролоксу і мелатоніну [5]. Оскільки введення геніпіну істотно не покращувало ступінь

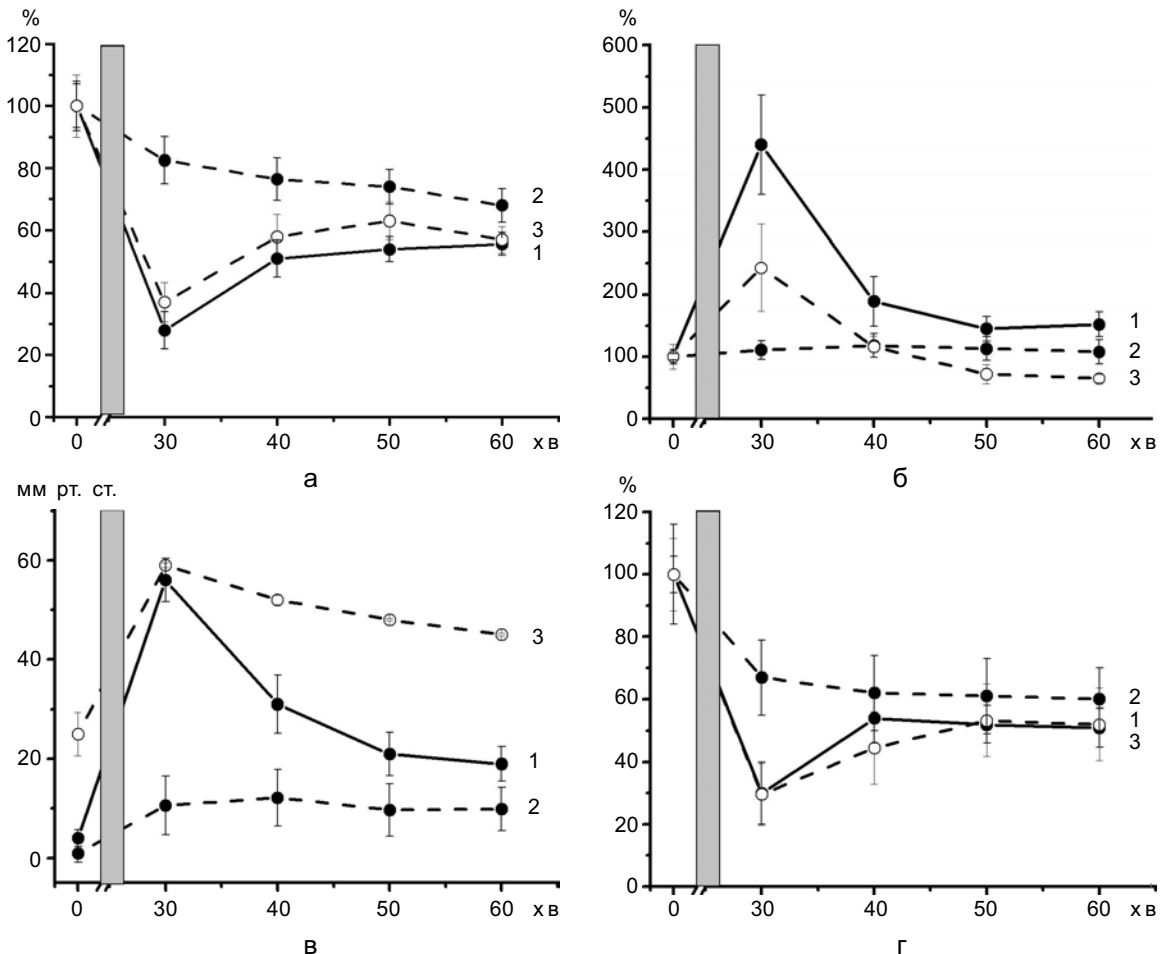


Рис. 3. Відновлення показників функціонального стану серця підчас реперфузії у контрольних умовах (1), після ішемічного прекондіціювання без (2) і на фоні введення геніпіну (3): а – тиск у лівому шлуночку; б – киснева вартість роботи серця; в – кінцево-діастолічний тиск; г – інтенсивність скоротливої функції міокарда

відновлення функції серця дорослих щурів після тривалої ішемії, але і не пригнічувало її як у старих тварин з підвищеним базовим рівнем експресії генів UCP2 і UCP3 [2, 3], ми вважаємо, що він проявляв антиоксидантну силу, але недостатню для істотного зменшення реперфузійних порушень функції серця.

Отже, пригнічення ефекту ІП геніпіном імовірно було зумовлено не його антиоксидантними властивостями, а блокадою активності UCP.

Таким чином, UCP беруть активну участь у формуванні кардіопротекторного ефекту ІП, оскільки блокада їх активності геніпіном пригнічувала захисний ефект адаптації до ішемії, а короточасне або довготривале припинення перфузії стимулювало збільшення експресії генів UCP2 і UCP3 у серці.

Багато досліджень присвячено вивченню внутрішньоклітинних захисних сигнальних шляхів, що включаються у механізм ІП. Факторами, які вивільнюються під час коротких періодів ішемії і діють через відповідні рецептори - аденозин, брадикінін, норадреналін, ендорфіни активується протеїнкіназа С [13]. АФК, які виділяються в «проміжних» реперфузіях, також задіяні в процесах її активації. Відомо, що антиоксиданти здатні інгібувати формування

адаптаційної толерантності серця до ішемії-реперфузії. Кінцевим підсумком процесів передачі сигналу при ІП вважається фосфорилування і активація АТФ-залежних калієвих каналів [12, 15]. Серед мітохондріальних механізмів ІП відомо про активацію АНТ, збільшення транспорту вільних жирних кислот і «м'яке роз'єднання» [10], а також – запуск протонпровідної активності UCP, що в свою чергу може запобігати надмірній продукції АФК дихальним ланцюгом [8, 11].

Участь UCP2 і UCP3 у механізмах прекодиціювання можуть опосередковано підтвердити результати молекулярно-генетичних експериментів. Було виявлено збільшення вмісту мРНК UCP2 у мозку після ІП [17], а також в серіях з ішемією-реперфузією, ІП, ІП і ішемією-реперфузією гіпокампо показано одночасне збільшення експресії гена і білка UCP2 [16]. Отримані нами результати про збільшення експресії генів UCP2 і UCP3 у серці щурів після реперфузії без і на фоні ІП цілком узгоджуються з наведеними літературними даними. Таким чином, активація системи UCP за умов ІП відбувається не лише на рівні функціонування білкових молекул, але й експресії генів UCP2 і UCP3.

Другим доказом участі UCP у кардіопротекторному механізмі ІП можуть бути результати експериментів з попереднім введенням геніпіну, внаслідок чого відновлення функції ізольованого серця за характером нагадувало таке у серії з контрольною ішемією міокарда. Існує думка, що UCP властива також функція регуляції кальцієвого гомеостазу [3, 20], ймовірно саме тому їх інгібування супроводжується істотними порушеннями скоротливої функції серця. Блокада активності UCP2 геніпіном може призводити до перевантаження клітин іонами кальцію. У таких умовах підвищується чутливість мітохондрій до утворення МП, відповідно ефект ІП нівелюється, що ми і спостерігали.

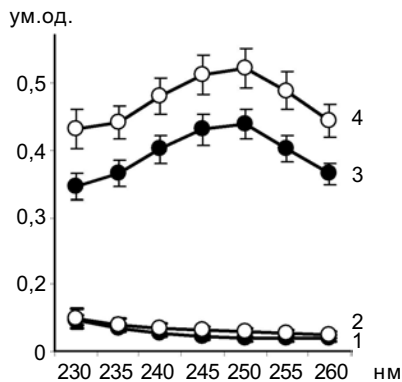


Рис. 4. Зміни оптичної густини розчину, що відтікав від ізольованого серця щурів перед ішемією (1, 2), за першу хвилину реперфузії без (3) і на фоні введення геніпіну (4)

ВИСНОВКИ

1. UCP беруть активну участь у формуванні кардіопротекторного ефекту ІП, оскільки блокада їх активності геніпіном пригнічувала захисний ефект адаптації до ішемії.

2. Під впливом ІП і тривалої ішемії–реперфузії міокарда збільшується експресія генів UCP2 і UCP3 у тканинах серця, що вказує на їх участь у формуванні кардіопротекторного ефекту.

Автори висловлюють подяку провідному науковому співробітнику відділу загальної і молекулярної патофізіології В.Є Досенку за сприяння у проведенні генетичних досліджень.

Ю.В. Гошовская, Т.В. Шиманская, В.Ф. Сагач

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНИПИНА – ИНГИБИТОРА РАЗОБЩАЮЩИХ БЕЛКОВ – УГНЕТАЕТ ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

Функциональное значение разобщающих белков UCP2 и UCP3 в клетке и организме остается не выясненным до настоящего времени. Появились сообщения об их участии в клеточных механизмах защиты, лежащих в основе феномена ишемического preconditionирования. Целью данной работы было выяснение роли UCP2 и UCP3 в формировании кардиопротекторного эффекта ишемического preconditionирования. В экспериментах на изолированных сердцах крыс было показано увеличение уровня экспрессии генов UCP2 и UCP3 в тканях сердца как под влиянием ишемического preconditionирования в виде трех 5-минутных эпизодов остановки перфузии сердца, так и длительной ишемии-реперфузии миокарда. Блокада активности разобщающих белков UCP2 геніпіном («Wako Inc.», США, 10^{-5} моль / л, перфузия изолированного сердца в течение 15 минут) отменяла защитный эффект адаптации к ишемии. Сделан вывод, что разобщающие белки принимают активное участие в формировании кардиопротекторного эффекта ишемического preconditionирования.

Ключевые слова: изолированное сердце, разобщающие белки UCP2 и UCP3, геніпін, ишемическое preconditionирование.

Yu.Goshovska, T.Shimanskaya, V.Sagach

GENIPIN, AN UNCOUPLING PROTEINS INHIBITOR, REDUCES THE PROTECTIVE EFFECT OF ISCHEMIC PRECONDITIONING

The functional significance of uncoupling proteins UCP2 and

UCP3 in the cell and the organism remains unknown. There have been reports about their involvement in cellular protection mechanisms underlying the phenomenon of ischemic preconditioning. The purpose of this study was to elucidate the role of uncoupling proteins UCP2 and UCP3 in the formation of cardioprotective effect of ischemic preconditioning. In experiments on isolated rat hearts we show here an increase in the level of UCP2 and UCP3 gene expression in the heart tissue under the influence of ischemic preconditioning with three episodes of 5 min stopping the flow perfusion. Similar effects were induced by a prolonged ischemia-reperfusion of myocardium. The blockade of the UCP2 activity by genipin (Wako Inc., USA, 10^{-5} mol/L, isolated heart perfusion for 15 minutes) abolished the protective effect of adaptation to ischemia. It was concluded that uncoupling proteins take part in the cardioprotective effect of ischemic preconditioning.

Key words: isolated heart, uncoupling proteins UCP2 and UCP3, genipine, ischemic preconditioning.

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Галагудза М.М. Роль активных форм кислорода в механизмах локального и дистантного ишемического preconditionирования миокарда // Регион. Кровообращения и микроциркуляции. – 2005. – 4, №16. – С. 72–78.
2. Гошовська Ю.В., Лісовий О.О., Шиманська Т.В., Сагач В.Ф. Зміни експресії генів UCP2 та UCP3, функціонального стану і кисневої вартості роботи міокарда в умовах старіння та ішемії–реперфузії // Фізіол. журн. – 2009. – 55, №3. – С.26–36.
3. Гошовська Ю.В., Шиманська Т.В., Сагач В.Ф. Вплив геніпіну – інгібітора UCP2 – на функцію серця старих шурів // Там само. – 2009. – 55, №5. – С.28–34.
4. Гошовська Ю.В., Шиманська Т.В., Рудик О.В., Коркач Ю.П., Сагач В.Ф. Проникність мітохондріальних мембран як мішень ішемічного preconditionування // Там само. – 2011. – 57, №4. – С.
5. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Надточій С.М. Попередження постреперфузійних порушень функції серця та неефективного використання кисню за допомогою інгібіторів мітохондріальної пори // Там само. – 2002. – 48, №6. – С. 3–9.
6. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Надточій С.М. Фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця, може бути маркером відкриття мітохондріальної пори // Там само. – 2003. – 49, №4. – С. 6–12.
7. Barrier A., Olaya N., Chiappini F., Roser F, Scatton O., Artus C., Franc B., Dudoit S., Flahault A, Debuire B., Azoulay D., Lemoine A. Ischemic preconditioning modulates the expression of several genes, leading to the overproduction of IL-1Ra, iNOS, and Bcl-2 in a human model of liver ischemia-reperfusion // FASEB

- J. – 2005. – **19**. – P. 1617–1626.
8. Brand M.D., Buckingham J.A., Esteves T.C., Green K., Lambert A.J., Miwa S., Murphy M.P., Pakay J.L., Talbot D.A., Echtay K.S. Mitochondrial superoxide and aging: uncoupling-protein activity and superoxide production // *Biochem. Soc. Symp.* – 2004. – **71**. – P. 203–213.
 9. Brand M.D., Esteves T.C. Physiological functions of the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3 // *Cell Metabol.* – 2005. – **2**. – P.85–93.
 10. Carreira R.S., Miyamoto S., DiMascio P., Goncalves L.M., Monteiro P., Providencia L.A., Kowaltowski A.J. Ischemic precondition enhances fatty acid-dependent mitochondrial uncoupling // *J. Biochem. Bioenerg.* – 2007. – **39**. – P. 313–320.
 11. Echtay K.S., Roussel D., St-Pierre J., Morrison A., Pickering S., Clapham J.C., Brand M.D. Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein // *Nature.* – 2002. – **415**. – P. 96–99.
 12. Garlid K.D., P. Paucek, V. Yarov-Yarovoy, Murray H.N., Darbenzio R.B., Lonzo A.J., Longe N.J., Smith M.A., Grover G.I. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K⁺channels. Possible mechanisms of cardioprotection // *Circ.Res.* – 1997. – **81**. – P. 1072–1082.
 13. Javadov S. A., Clarke S., Das M., Griffiths E.J., Lim K.H.H., Halestrap A.P. Ischaemic preconditioning inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores in the reperfused rat heart // *J. Physiol.* – 2003. – **549**. – P. 513–524.
 14. Koo H.J., Song Y.S., Kim H.J., Lee Y.H., Hong S.M., Kim S.J., Kim B.C., Jin C., Lim C.J., Park E.H. Anti-inflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia // *Eur. J. Pharmacol.* – 2004. – **495**. – P. 201–208.
 15. Liu Y., T. Sato, B. O'Rourke, E. Marban. Mitochondrial ATP dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection // *Circulation.* – 1998. – **97**. – P. 2463–2469.
 16. Liu Y., Chen L., Xu X., Vicaute E., Sercombe R. Both ischemic preconditioning and ghrelin administration protect hippocampus from ischemia/reperfusion and upregulate uncoupling protein-2 // *BMC Physiol.* – 2009. – **9**. – P. 17– 31.
 17. Mattiasson G., Shamloo M., Gido G., Mathi K., Tomasevic G., Yi S., Warden C.H., Castilho R.F., Melher T., Gonzalez-Zulueta M. Uncoupling protein-2 prevents neuronal death and diminishes brain dysfunction after stroke and brain trauma // *Nat. Med.* – 2003. – **9**. – P. 1062–1068.
 18. Murray C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium // *Circulation.* – 1986. – **74**. – P. 1124–1136.
 19. Nadtochiy S.M., Nauduri D., Shimanskaya T.V., Sagach V.F., Brookes P.S. Purine release: a protective signaling mechanism of the mitochondrial permeability transition pore in ischemia // *Фізіол. журн.* – 2008. – **54**, 6. – С.5–14.
 20. Trenker M., Fertschai I., Malli R., Graier W.F. UCP2/3 – likely to be fundamental for mitochondrial Ca²⁺ uniport // *Nature Cell Biol.* – 2008. – **10**, 11. – P. 1237–1240.
 21. Tseng T.H., Chu C.Y., Huang J.M., Shiow S.J., Wang C.J. Crocetin protects against damage in rat primary hepatocytes // *Cancer Lett.* – 1995. – **97**. – P.61–67.
 22. Wu S.Y., Wang G.F., Liu Z.Q., Rao J.J., Li L., Xu W., Wu S.G., Zhang J.J. Effect of geniposide, a hypoglycemic glucoside, on hepatic regulating enzymes in diabetic mice induced by a high-fat diet and streptozotocin // *Acta Pharmacol Sin.* – 2009. – **30**, 2. – P. 202–208.
 23. Young M.E., Patil S., Ying J., Depre C., Ahuja H.S., Shipley G.L., Stepkowski S.M., Davies P.J., Taegtmeyer H. Uncoupling protein 3 transcription is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor (alpha) in the adult rodent heart // *FASEB J.* – 2001. – **15**, 3. – P.833–845.
 24. Zhang Ch.-Y., Parton L.E., Ye C.P., Krauss S., Shen R., Lin C.T., Porco J.A.Jr., Lowell B.B. Genipin inhibits UCP2-mediated proton leak and acutely reverses obesity- and high glucose-induced beta cell dysfunction in isolated pancreatic islets // *Cell Metab.* – 2006. – **3**, 6. – P. 417–427.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: tshimanskaya@gmail.com

Матеріал надійшов до
редакції 02.08.2011