

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ УРИДИН-5'-МОНОФОСФАТА И УРИДИНА В МОДЕЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА КРЫС С ПОМОЩЬЮ ИЗОПРЕНАЛИНА

© 2024 г. Н.В. Белослудцева*,#, Т.А. Урюпина*, Д.А. Хуртин**,
Н.В. Хундерякова*, Г.Д. Миронова*

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Институтская, 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

**Марийский государственный университет, пл. Ленина, 1, Йошкар-Ола, 424001, Россия

#E-mail: belosludtsevanv@iteb.pushchino.ru

Поступила в редакцию 20.03.2024 г.

После доработки 15.07.2024 г.

Принята к публикации 17.07.2024 г.

Изучено влияние уридина и его монофосфорилированного производного на уровень основных биохимических маркеров повреждения миокарда в крови и электрическую активность сердца в модели кардиомиопатии у крыс, вызванной изопреналином. Показано, что введение изопреналина (150 мг/кг, подкожно) вызывает увеличение активности сывороточных ферментов аспартатамино-трансферазы и аланинаминотрансферазы, их соотношения (коэффициента де Ритиса), а также активности лактатдегидрогеназы в лимфоцитах крови, что подтверждает развитие повреждения миокарда у экспериментальных животных. Анализ электрокардиографических данных выявил увеличение продолжительности интервалов RR, P-R, QT, QTc и комплекса QRS, что указывает на удлинение фазы деполяризации и реполяризации относительно длительности сердечного цикла у крыс с изопреналин-индуцированным повреждением миокарда. Предварительное введение экспериментальным животным уридина и уридин-5'-монофосфата в дозах 30 мг/кг одинаково эффективно препятствует повышению ферментативной активности аспартатамино-трансферазы и коэффициента де Ритиса, приводит к снижению продолжительности интервалов P-R, QRS, QT и QTc, а также к частичной нормализации метаболической активности лимфоцитов крови крыс. Полученные данные указывают на то, что уридин и уридин-5'-монофосфат оказывают сходное протекторное действие на сократительную функцию кардиомиоцитов и могут рассматриваться в качестве средств метаболической защиты для комплексной терапии ишемической болезни сердца.

Ключевые слова: уридин, УМФ, кардиомиопатия, изопреналин, электрокардиография, окислительное фосфорилирование, гликолиз.

DOI: 10.31857/S0006302924040168, **EDN:** NFWNTA

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из наиболее значимых медико-социальных проблем и ведущей причиной смертей в большинстве стран, включая Россию. Несмотря на то, что смертность от ССЗ в развитых странах постепенно снижается, ишемическая болезнь сердца и другие патологии миокарда остаются основными причинами ухудшения здоровья, низкого качества жизни и инвалидизации во всем мире [1].

Сокращения: ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, УМФ – уридин-5'-монофосфат, АСТ – аспартатамино-трансфераза, ЛДГ – лактатдегидрогеназа, СДГ – сукцинатдегидрогеназа, Ур – уридин, ИЗО – гидрохлорид изопреналина, ЭКГ – электрокардиограмма, АЛТ – аланинаминотрансфераза.

Традиционно ишемическое повреждение миокарда при ССЗ рассматривается как следствие дисбаланса потребности миокарда в кислороде и субстратах метаболизма над их доступностью, возникающего при нарушениях коронарного кровообращения и сопутствующем появлении эпизодов ишемии [2]. Поэтому в течение длительного времени противоишемическая терапия была сосредоточена, в основном, на фармакологической модуляции работы сердечной мышцы (например, синтетическими бета-блокаторами, блокаторами кальциевых каналов и др.) и коронарного кровотока (с помощью нитроглицерина), отдельно или в комбинации, а также на механическом удалении бляшек коронарных артерий при операционном вмешательстве [2, 3].

Ожидалось, что эти стратегии будут способствовать предотвращению инфаркта миокарда, устранению эпизодов ишемии и повышению выживаемости. К сожалению, накопленный клинический материал показывает, что около трети пациентов, перенесших успешную операцию, продолжают испытывать стенокардию, а современная медикаментозная терапия имеет лишь очень ограниченную эффективность [2–4]. Поэтому поиск принципиально новых эффективных способов профилактики и защиты миокарда при ССЗ остается актуальной задачей здравоохранения.

Исследования последних лет свидетельствуют о том, что низкая эффективность традиционной терапии, основанной на использовании гемодинамических средств и механическом устранении бляшек, обусловлена многофакторной природой ишемического повреждения миокарда, включающей окислительный стресс, ионный (прежде всего, кальциевый и калиевый) дисбаланс и митохондриальную дисфункцию [5–8]. В отдельную группу патологий сердца были выделены стрессиндуцированные кардиомиопатии, наблюдающиеся на фоне предшествовавшего эмоционального или физического стресса при отсутствии выраженной патологии коронарных артерий. Патогенез поражения миокарда при данных состояниях связывают с воздействием массивного выброса катехоламинов за счет их высвобождения из адренергических нервных терминалей, наибольшее количество которых наблюдается в апикальных отделах левого желудочка [9, 10]. Следствием избыточной активации β -адренорецепторов катехоламинами является неконтролируемый ток ионов кальция внутрь кардиомиоцитов с последующей активацией протеаз и Ca^{2+} -обменных каналов, что ведет к ускорению окислительных процессов и накоплению активных форм кислорода и, в конечном итоге, вызывает апоптоз и некроз кардиомиоцитов. В дальнейшем, такие состояния могут являться причинами внезапной сердечной смерти, особенно у лиц молодого возраста [10].

В экспериментальных моделях для изучения механизмов развития этой патологии сейчас широко используются стимуляторы β -адренорецепторов, в частности производное адреналина — изопrenalин. Известно, что изопrenalин вызывает резкое увеличение силы и частоты сердечных сокращений. При этом у грызунов моделируются типичные повреждения тканей миокарда, а именно очаговый некроз и нарушения его сократимости. Показано, что введение изопrenalина вызывает глубокие повреждения кардиомиоцитов, выражающиеся в нарушении энергетического обмена и ионного гомеостаза [11].

В последние годы в связи с развитием метаболических исследований установлена важная патогенетическая роль интермедиатов и физиологических субстратов окисления митохондрий, участвующих в переходе от аэробного к анаэробному метаболизму и полном метаболическом перепрограммировании ишемизированного миокарда [5, 12–14]. В этом смысле использование метаболических модуляторов открывает путь к новому, комплексному способу предупреждения болезней сердца, основанном на представлении об ишемическом повреждении не как о простом дисбалансе потребности/обеспечения кислорода и метаболитов, а как о мультифакториальной клеточной патологии. К таким модуляторам можно отнести пиримидиновый нуклеозид уридин и уридин-5'-монофосфат (УМФ), которые являются метаболическими предшественниками уридиндифосфата, природного активатора митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов (митокАТФ-каналов) [15].

Пиримидиновый нуклеозид уридин и его фосфорилированные производные играют важную роль в регуляции энергетического баланса и окислительного фосфорилирования, системного метаболизма, синтеза гликогена, поддержании структуры клеточных мембран и сократительной функции сердца [16–18]. Известно, что уридин-монофосфат может быть использован в качестве удобного средства доставки уридина в различные ткани организма, поскольку нефосфорилированный уридин катаболизируется в печени и вследствие этого обладает более низкой биодоступностью [16, 18]. В то же время в ряде экспериментальных моделей патологий сердца терапевтические эффекты уридина и УМФ, синтез которого в тканях напрямую зависит от уровня уридина в крови, были одинаково выраженными [19]. Стоит отметить, что использование обоих соединений имеет неоспоримые преимущества перед применением синтетических фармакологических препаратов, поскольку они имеют низкую токсичность и их концентрации в клетках можно регулировать.

Целью настоящей работы являлось исследование кардиопротекторных свойств уридина и его фосфата УМФ в отношении изменений биохимических маркеров повреждения миокарда в крови и электрической активности сердца в модели острого повреждения миокарда у крыс, вызванного высокими дозами агониста β -адренорецепторов изопrenalина. Сравнительная оценка эффективности терапии уридином и его фосфорилированным производным в условиях данной модели в доступной литературе отсутствуют. Мы оценили эффект предварительного введения экспериментальным животным уридина и УМФ (оба в дозе 30 мкг/кг, в/б за 60 мин до инъекций изопrenalина) на изменение сывороточной актив-

ности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и коэффициента де Ритиса во взаимосвязи с исследованием электропроводящей функции сердца методом электрокардиографии. С помощью цитохимического анализа было определено влияние уридина и УМФ на ферментативную активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ), отражающую интенсивность процессов гликолиза и окислительного фосфорилирования соответственно, в лимфоцитах периферической крови животных с изопреналин-индуцированным повреждением ткани сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные группы животных и условия их содержания. В работе использовали половозрелых самцов крыс линии Вистар массой 230–260 г. разведения питомника ИТЭБ РАН. Исследование проведено в соответствии с «Правилами проведения исследований с экспериментальными животными» (Приказ Минздрава России от 12 августа 1997 г. № 755). Все процедуры, проводимые с крысами, были одобрены Комиссией по биобезопасности и биоэтике (ИТЭБ РАН, разрешение № 8 от 08 февраля 2023 г.) в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента.

Животные были произвольно разделены на шесть групп и содержались в одинаковых условиях температуры и влажности при свободном доступе к стандартизированным кормам и воде. Экспериментальные группы включали: 1-я – контроль («К») (физ. р-р, подкожно, 1.5 мл/кг веса тела животного) ($n = 6$); 2-ая – контроль + уридин («К+Ур») (уридин, внутрибрюшинно, 30 мг/кг) ($n = 5$); 3-я – контроль + УМФ («К+УМФ») (УМФ, внутрибрюшинно, 30 мг/кг) ($n = 5$); 4-я – изопреналин-индуцированное повреждение миокарда («ИЗО») (гидрохлорид изопrenalина, двукратно через 24 ч, подкожно, 150 мг/кг) ($n = 5$); 5-я – «ИЗО+Ур» – (уридин, внутрибрюшинно, 30 мг/кг за 60 мин до инъекций ИЗО) ($n = 6$); 6-я – «ИЗО+УМФ» – (УМФ, внутрибрюшинно, 30 мг/кг за 60 мин до инъекций ИЗО) ($n = 6$). В работе использовали свежеприготовленные растворы гидрохлорида изопrenalина (Sigma-Aldrich, США), уридина (PanReac AppliChem Германия) и УМФ (Sigma-Aldrich, США) в стерильном физиологическом растворе. Сердца экспериментальных животных извлекали через 48 ч после первой инъекции изопrenalина.

Регистрация и анализ электрокардиограммы у крыс. Электрокардиограммы (ЭКГ) записывали во II стандартном отведении в течение 10 мин с компьютерного электрокардиографа «Поли-Спектр-8/В» (Россия). Сигналы ЭКГ обрабатывали с помощью встроенного программного обеспечения для контурного анализа «Поли-

Спектр.NET/Экспресс» (Россия). Для каждой записи ЭКГ оценивали частоту сердечных сокращений (ЧСС), длительность интервалов R-R, P-R, QT и QTc и комплекса QRS. Для иммобилизации животных использовали комбинированный наркоз. Крыс анестезировали с помощью золетила 100 (Zoletil 100, Франция) в дозе 50 мг/кг, внутримышечно, с премедикацией рометаром (АО «Биовета», Россия) в дозе 5 мг/кг, внутримышечно. Наркоз верифицировали по исчезновению реакции на болевые раздражители и угнетению роговичного рефлекса у животных.

Определение уровня биохимических маркеров повреждения миокарда в сыворотке крови крыс. Активность ферментов аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови экспериментальных крыс измеряли спектрофотометрическим методом с помощью коммерческих наборов АСТ-УФ-Новожидакая форма (100) (АО «Вектор-Бест», Россия) и АЛТ-УФ-Новожидакая форма (100) (АО «Вектор-Бест», Россия) с использованием автоматического планшетного ридера Spark-10M (Tecan, Австрия). Перед началом работы сыворотку крови инкубировали с помощью твердотельного термостата (ГНОМ, Россия) при 37°C в течение 30 мин и далее анализировали в соответствии с рекомендациями производителя.

Цитобиохимическое определение активности ферментов в лимфоцитах на мазке крови животных. Активность сукцинатдегидрогеназы митохондрий и лактатдегидрогеназы в цитозоле в лимфоцитах периферической крови животных, полученной из кончика хвоста, определяли цитобиохимическим методом (патент РФ № 2364868), в основе которого лежит восстановление нитросинего тетразолия гидрохлорида до темно-синего диформаза [20]. Для приготовления однотипных мазков использовали автоматическое устройство V-Sampler (Vision, Германия). Микроскопирование мазков проводили на микроскопе Leica-DM 2000 с цветной фотокамерой Leica DFC 425 (Leica, Германия) при увеличении 1000× под масляной иммерсией. Для поиска и захвата клеток использовали разработанное программное обеспечение Bloodrunner (свидетельство RU № 2010616976 от 19.10.2010 г., Россия) с последующим количественным анализом с помощью Cell Composer (свидетельство RU № 2012618186 от 10.10.2012 г., Россия). Вычисляли среднюю площадь окраски диформаза (в $\mu\text{м}^2$) в выборке из 100 лимфоцитов у каждого животного.

Статистическая обработка данных. Полученные данные были проанализированы с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 7.0 и Excel 10.0 и представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего. Анализ на нормальность распределения данных прово-

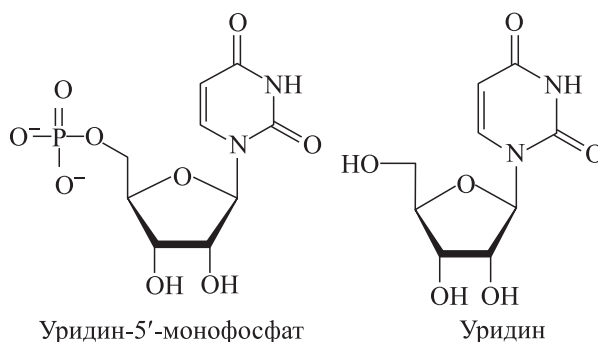


Рис. 1. Структурные формулы уридин-5'-монофосфата и уридина.

дили с помощью критерия Шапиро—Уилка. Статистические различия между группами определялись с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим множественным сравнением по критерию Тьюки. Различия между средними считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уридин и уридин-5'-монофосфат снижают активность сывороточных маркерных ферментов аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в модели изопреналин-индуцированного повреждения миокарда у крыс. В работе было изучено влияния профилактического введения крысам уридина и УМФ в дозах 30 мг/кг веса тела животного на ранние (48 ч) функциональные изменения миокарда в модели катехоламинового повреждения сердца путем двукратной (с интервалом 24 ч) инъекции изопреналина (150 мг/кг массы тела животного). Данная модель воспроизводит основные морфо-функциональные изменения миокарда при сердечной недостаточности [21, 22]. Доза УМФ и уридина (рис. 1) была подобрана на основании ранее проведенных в лаборатории исследований и литературных данных [23–25]. Схема эксперимента представлена на рис. 2.

Для подтверждения развития повреждения миокарда был проведен анализ активности биохимических биомаркеров разрушения кардиомиоцитов аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови крыс в исследуемых экспериментальных группах (рис. 3). Как известно, АСТ и АЛТ являются двумя наиболее ранними показателями повреждений сердца, причем АСТ более специфичен, чем АЛТ. Соотношение активностей данных ферментов (коэффициента де Ритиса) в сыворотке используется для определения процессов некроза кардиомиоцитов. Обнаружено, что введение изопреналина вызывает резкое (в 4 раза) увеличение активности АСТ и незначительное (на 21%) повышение активности АЛТ. Это сопровождается увеличением

соотношения АСТ/АЛТ, что подтверждает развитие повреждения миокарда у экспериментальных животных. Введение крысам уридина и УМФ за 60 мин до инъекции изопреналина (группы «Ур+ИЗО» и «УМФ+ИЗО») приводило к статистически значимому подавлению активности АСТ, но не АЛТ, и снижению коэффициента де Ритиса.

Полученные данные указывают на то, что уридин и УМФ оказывают защитное действие на клетки миокарда в исследуемой модели патологии сердца у крыс. В целом эти данные подтверждают, что воздействие высоких доз ИЗО вызывает выраженное повреждение миокарда в остром (48 ч) периоде и может быть использовано для выявления ранних патологических изменений.

Сравнение ранних изменений параметров ЭКГ при изопреналин-индуцированном повреждении сердца крыс на фоне терапии уридином и уридин-5'-монофосфатом. С целью определения изменений электрической активности и проводящей функции сердца в работе было проведено электрокардиографическое исследование в условиях моделирования повреждения миокарда крыс на фоне терапии уридином и УМФ (рис. 4). Анализ данных ЭКГ показал, что введение изопреналина вызывало снижение показателя ЧСС и удлинение интервала R-R (рис. 5). Это согласуется с литературными данными о том, что избыточные дозы агонистов адренорецепторов вызывают нарушение синусового ритма и последующую брадикардию, свидетельствующие об общем нарушении сократимости и расслабления миокарда [26, 27]. Кроме того, введение изопреналина значительно увеличивало продолжительность комплекса QRS и интервал P-R, а также продолжительность зубца R, что указывает на нарушение внутрижелудочковой и атриовентрикулярной проводимости. Как известно, интервал QT и скорректированный интервал QT (QTc), который учитывает изменения ЧСС, являются параметрами деполяризации и реполяризации желудочков. Обнаружено, что изопреналин вызывает значительное увеличение продолжительности интервалов QT и QTc, свиде-

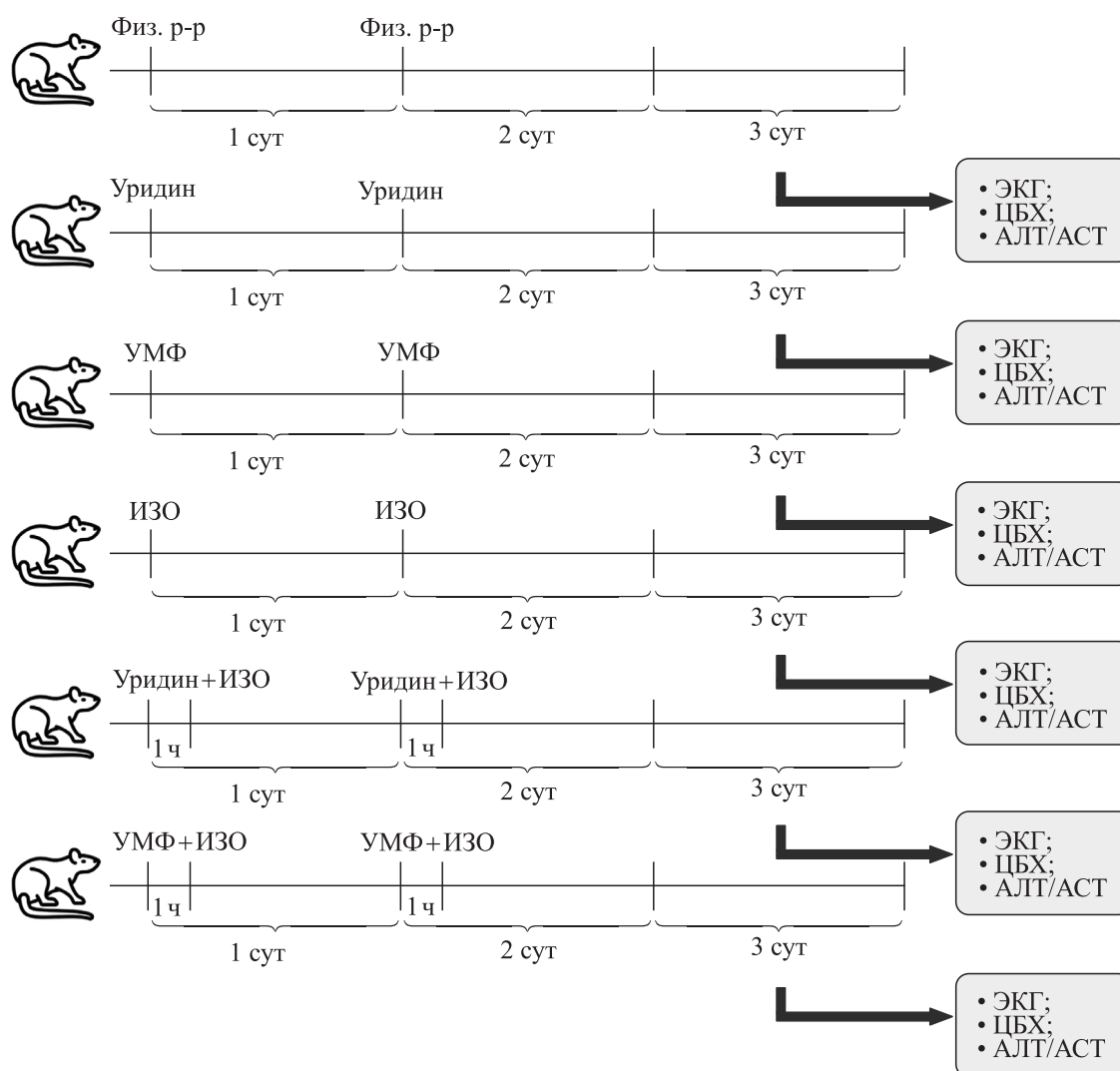


Рис. 2. Схема эксперимента и группы животных. В исследование было включено шесть экспериментальных групп крыс: контроль ($n = 6$), контроль + уридин ($n = 5$), контроль + УМФ ($n = 5$), изопrenalина гидрохлорид ($n = 5$), изопrenalин + уридин ($n = 6$), изопrenalин + УМФ ($n = 6$).

тельствующее об удлинении фазы деполяризации и реполяризации относительно длительности сердечного цикла. Наблюдаемые изменения могут указывать на нарушения электрической проводимости сердца, которые регистрируются при каналопатиях, гипокалиемии, развитии аритмий, ишемии и инфаркте миокарда, а также при синдроме удлиненного интервала QT. Как видно из рисунка, введение уридина и УМФ крысам с повреждением сердца приводит к значительному сокращению QT и QTc по сравнению с опытной группой («ИЗО»). В то же время введение препаратов здоровым крысам (группы «К+Ур», «К+УМФ») не влияло на данные показатели, и они оставались в пределах нормы.

Таким образом, введение уридина и УМФ вызывало схожие нормализующие эффекты в отношении изменений показателей ЭКГ у крыс в

условиях катехоламин-индуцированного повреждения миокарда. Наши более ранние исследования показали, что уридин оказывает протекторное действие путем активации митоКАТФ-каналов при целом ряде патологий сердца, связанных с развитием окислительного стресса и дисфункцией митохондрий [17, 23, 25]. Недавние исследования в области транскриптомного и протеомного профилирования указывают на то, что уридин способствует регенерации тканей животных путем модулирования ключевых метаболических процессов [28].

Влияние уридина и уридин-5'-монофосфата на показатели интенсивности гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах крови крыс с изопrenalин-индуцированным повреждением миокарда. Известно, что в ишемизированном миокарде наблюдается переход от аэробного к анаэ-

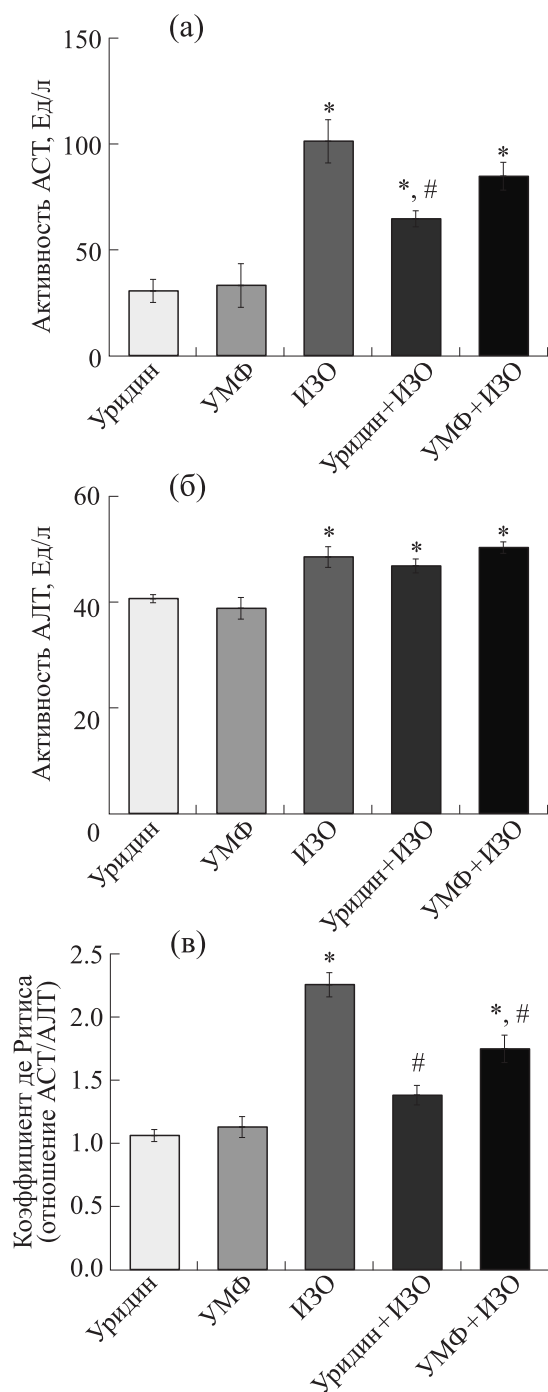


Рис. 3. Активность сывороточных ферментов АСТ (а), АЛТ (б) и коэффициент де Ритиса (в) у крыс в экспериментальных группах. Представлены среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего ($n = 5-6$). * – $p < 0.05$ относительно контрольной группы; # – $p < 0.05$ относительно группы «ИЗО».

робному метаболизму, при этом гликолиз становится основным источником АТФ [5–7]. В работе были исследованы активности цитоплазматиче-

ского фермента гликолиза лактатдегидрогеназы, который участвует в окислении глюкозы до молочной кислоты в анаэробных условиях, и ключевого маркера митохондрий сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах крови крыс с изопреналин-индуцированным повреждением миокарда. Обнаружено, что повреждение миокарда у крыс сопровождалось увеличением активности данных ферментов в лимфоцитах крови (рис. 6). Полученные данные могут быть связаны с развитием компенсаторных реакций, направленных на усиление гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах крови в ответ на введение животным избыточного количества изопреналина. Обнаружено, что введение уридина и УМФ крысам с повреждением миокарда приводило к статистически значимому снижению повышенной активности ЛДГ и СДГ. В контрольной группе животных введение УМФ вызывало повышение активности СДГ. Предположительно, УМФ может стимулировать активность ферментов цикла Кребса за счет образования АДФ и УДФ под действием УМФ-киназы [16, 18]. Однако этот вопрос требует дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе показана сходная эффективность применения уридина и УМФ в качестве средств метаболической защиты при остром повреждении миокарда, вызванном избыточной стимуляцией β -адренорецепторов. Эти данные подтверждаются недавними клиническими исследованиями о том, что повышение уровня уридина в плазме способствует снижению риска развития фибрилляции предсердий и атеросклероза [29, 30]. Наши предыдущие исследования демонстрируют, что в условиях ишемии и реперфузии введение уридина и УМФ предотвращает развитие редокс дисгомеостаза миокарда и нарушения сердечного ритма у крыс [15, 19]. Положительное действие этих соединений в отношении окислительного стресса и воспаления миокарда может быть связано с активацией митоКАТФ-каналов и нормализацией активности систем антиоксидантной защиты [14, 15, 19].

Полученные данные о защитном действии уридина и УМФ в отношении повреждения миокарда при гиперстимуляции катехоламинами могут быть использованы для разработки эффективных комплексных подходов к лечению стресс-индуцированных инфарктов и сердечной недостаточности. Однако необходимы дальнейшие исследования для выяснения основных механизмов действия уридина и его фосфорилированных производных как при остром, так и при персистирующем повреждении миокарда.



Рис. 4. Типичные записи ЭКГ крыс во втором отведении в исследуемых экспериментальных группах.

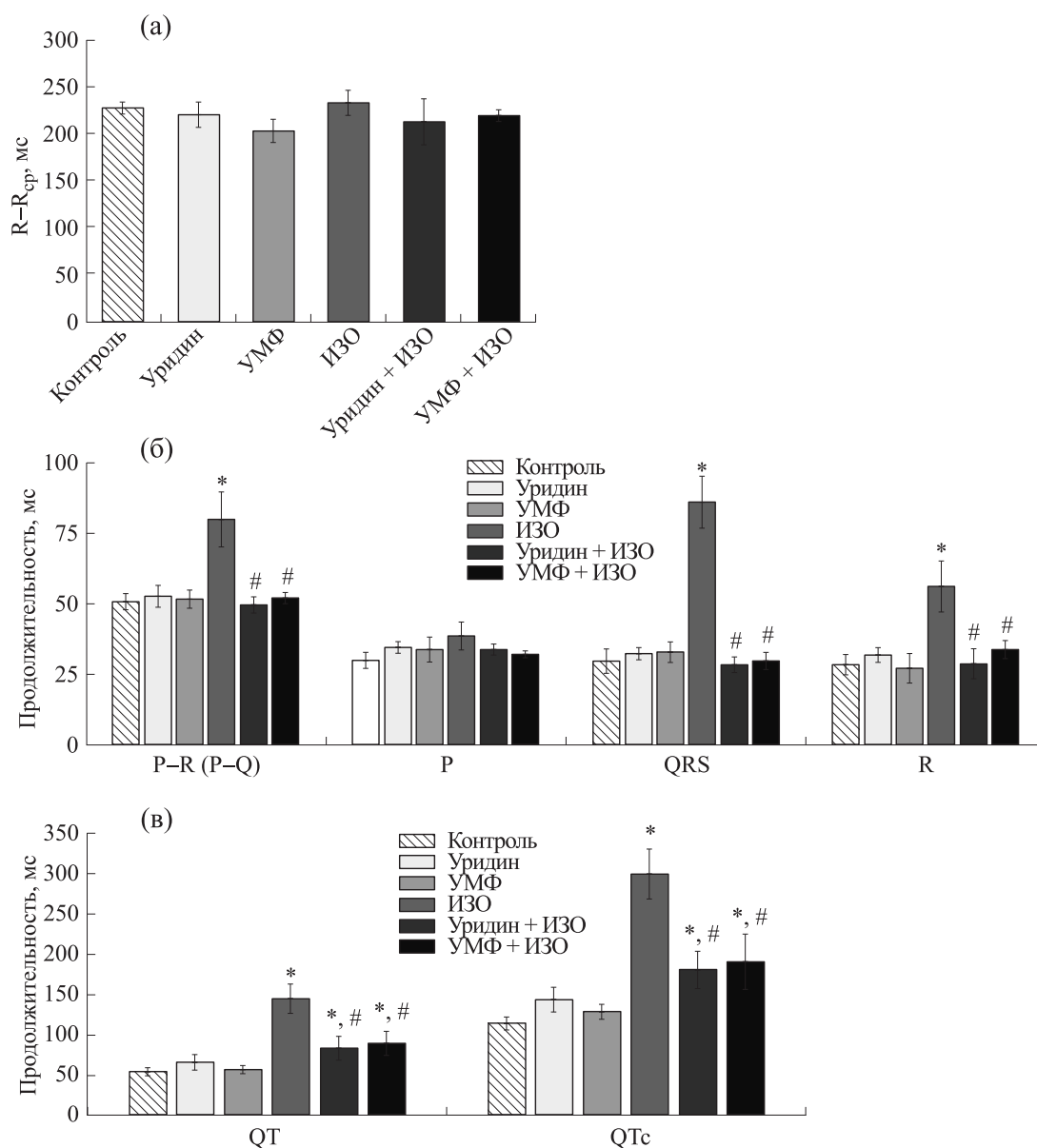


Рис. 5. Основные параметры ЭКГ крыс в экспериментальных группах: продолжительность наиболее распространенных интервалов (в миллисекундах) R-R_{ср}, P-R, P, QRS, R и QT, QTc. Данные представлены в виде средних значений $\pm$ стандартная ошибка среднего для группы из пяти животных. * – $p < 0.05$ относительно контрольной группы; # – $p < 0.05$ относительно группы «ИЗО».

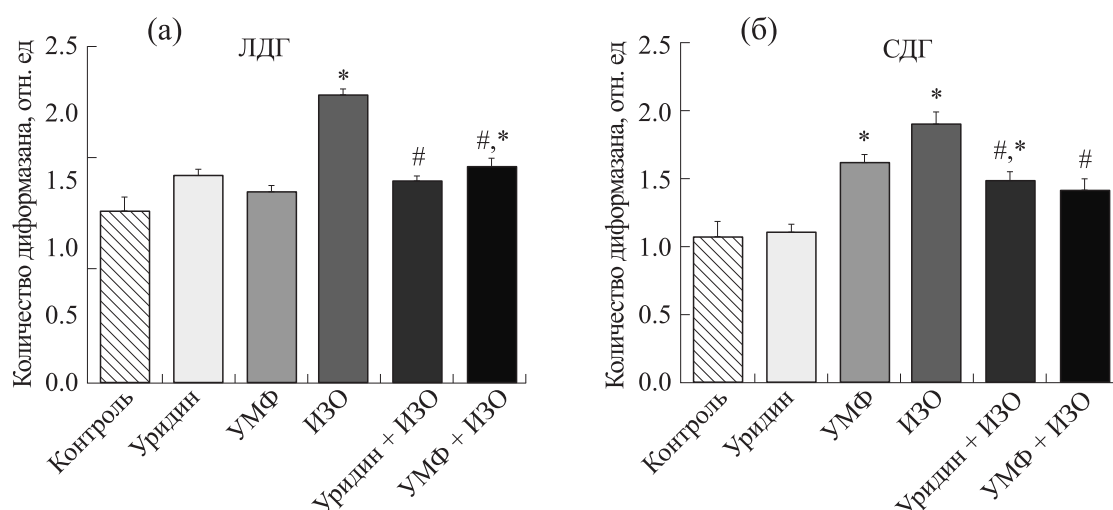


Рис. 6. Активность ферментов ЛДГ (а) и СДГ (б) в лимфоцитах крови крыс в экспериментальных группах. Представлены среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего ($n = 5-6$). * — $p < 0.05$ относительно контрольной группы; # — $p < 0.05$ относительно группы «ИЗО».

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке ИТЭБ РАН в рамках государственного задания № 075-00224-24-03.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием лабораторных животных, соответствовали этическим стандартам Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларации (2000). Все протоколы были одобрены Комиссией по биобезопасности и биоэтике ИТЭБ РАН (разрешение № 8 от 08 февраля 2023 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lindstrom M., DeCleeve N., Dorsey H., Fuster V., Johnson C. O., LeGrand K. E., Mensah G. A., Razo C., Stark B., Varieur Turco J., and Roth G. A. Global burden of cardiovascular diseases and risks collaboration. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **80** (25), 2372–2425 (2022). DOI: 10.1016/j.jacc.2022.11.001
- Marzilli M., Merz C. N., Boden W. E., Bonow R. O., Capozza P. G., Chilian W. M., DeMaria A. N., Guarini G., Huqi A., Morrone D., Patel M. R., and Weintraub W. S. Obstructive coronary atherosclerosis and ischemic heart disease: an elusive link! *J. Am. Coll. Cardiol.*, **60** (11), 951–956 (2012). DOI: 10.1016/j.jacc.2012.02.082
- Ponikowski P., Voors A. A., Anker S. D., Bueno H., Cleland J. G. F., Coats A. J. S., Falk V., González-Juanatey J. R., Harjola V.-P., Jankowska E. A., Jessup M., Linde C., Nihoyannopoulos P., Parissis J. T., Pieske B., Riley J. P., Rosano G. M. C., Ruilope L. M., Ruschitzka F., Rutten F. H., and van der Meer P. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. Heart J.*, **37** (27), 2129–2200 (2016). DOI: 10.1093/eurheartj/ehw128
- Severino P., D'Amato A., Pucci M., Infusino F., Birtolo L. I., Mariani M. V., Lavalle C., Maestrini V., Mancione M., and Fedele F. Ischemic heart disease and heart failure: role of coronary ion channels. *Int. J. Mol. Sci.*, **21** (9), 3167 (2020). DOI: 10.3390/ijms21093167
- Marzilli M. Myocardial energy balance and metabolism as causes of myocardial ischemia. *Vascul. Pharmacol.*, **154**, 107273 (2024). DOI: 10.1016/j.vph.2023.107273
- Pepine C. J. and Douglas P. S. Rethinking stable ischemic heart disease: is this the beginning of a new era? *J. Am. Coll. Cardiol.*, **60**, 11, 957–959 (2012). DOI: 10.1016/j.jacc.2012.04.046
- Tamis-Holland J. E., Jneid H., Reynolds H. R., Agewall S., Brilakis E. S., Brown T. M., Lerman A., Cushman M., Kumbhani Dh. J., Arslanian-Engoren C., Bolger A. F., and Beltrame J. F. Contemporary diagnosis and management of patients with myocardial infarction in the absence of obstructive coronary artery disease: A scientific statement from the American heart association. *Circulation*, **139** (18), 891–908 (2019). DOI: 10.1161/CIR.0000000000000670

8. Kuznetsov A. V., Javadov S., Margreiter R., Grimm M., Hagenbuchner J., and Ausserlechner M. J. The role of mitochondria in the mechanisms of cardiac ischemia-reperfusion injury. *Antioxidants (Basel)*, **8** (10), 454 (2019). DOI: 10.3390/antiox8100454
9. Ramaraj R. Stress cardiomyopathy: aetiology and management. *Postgrad. Med. J.*, **83** (982), 543–546 (2007). DOI: 10.1136/pgmj.2007.058776
10. Yoganathan T., Perez-Liva M., Balvay D., Le Gall M., Lallemand A., Certain A., Autret G., Mokrani Ya., Guillonneau F., Bruce J., Nguyen V., Gencer U., Schmitt A., Lager F., Guilbert Th., Bruneval P., Vilar J., Maissa N., Mousseaux E., Viel Th., Renault G., Kachenoura N., and B. Tavitian Acute stress induces long-term metabolic, functional, and structural remodeling of the heart. *Nat. Commun.*, **14** (1), 3835 (2023). DOI: 10.1038/s41467-023-39910-7
11. Boarescu P.-M., Boarescu I., Bulboaca A., Pârvu A., Gheban D., and Bolboaca S. Isoproterenol induced myocardial infarction in rats: dose identification. *Clujul. Med.*, **91**, S39–S40 (2018). DOI: 10.1016/j.phyplu.2023.100472
12. Diao H., Gu H., and Chen Q. M. Hyperkalemic or low potassium cardioplegia protects against reduction of energy metabolism by oxidative stress. *Antioxidants (Basel)*, **2023** **12** (2), 452 (2023). DOI: 10.3390/antiox12020452
13. Guarini G., Huqi A., Morrone D., and Marzilli M. Pharmacological agents targeting myocardial metabolism for the management of chronic stable angina : an update. *Cardiovasc. Drugs Ther.*, **30** (4), 379–391 (2016). DOI: 10.1007/s10557-016-6677-y
14. Horton J. L. and Virag J. Use of multifactorial treatments to address the challenge of translating experimental myocardial infarct reduction strategies. *Int. J. Mol. Sci.*, **20** (6), 1449 (2019). DOI: 10.3390/ijms20061449
15. Mironova G. D., Negoda A. E., Marinov B. S., Paucek P., Costa A. D., Grigoriev S. M., Skarga Y. Y., and Garlid K. D. Functional distinctions between the mitochondrial ATP-dependent K^+ channel (mitoKATP) and its inward rectifier subunit (mitoKIR). *J. Biol. Chem.*, **279** (31), 32562–32568 (2004). DOI: 10.1074/jbc.M401115200
16. Zhang Y., Guo S., Xie C., and Fang J. Uridine Metabolism and its role in glucose, lipid, and amino acid homeostasis. *Biomed. Res. Int.*, **7091718** (2020). DOI: 10.1155/2020/7091718
17. Mironova G. D., Khrenov M. O., Talanov E. Y., Glushkova O. V., Parfenyuk S. B., Novoselova T. V., Lunin S. M., Belosludtseva N. V., Novoselova E. G., and Lemasters J. J. The role of mitochondrial KATP channel in anti-inflammatory effects of uridine in endotoxemic mice. *Arch. Biochem. Biophys.*, **654**, 70–76 (2018). DOI: 10.1016/j.abb.2018.07.006
18. Krylova I. B., Selina E. N., Bulion V. V., Rodionova O. M., Evdokimova N. R., Belosludtseva N. V., Shigaeva M. I., and Mironova G. D. Uridine treatment prevents myocardial injury in rat models of acute ischemia and ischemia/reperfusion by activating the mitochondrial ATP-dependent potassium channel. *Sci. Rep.*, **11** (1), 16999 (2019). DOI: 10.1038/s41598-021-96562-7
19. Belosludtseva N. V., Starinets V. S., Mikheeva I. B., Belosludtsev M. N., Dubinin M. V., Mironova G. D., and Belosludtsev K. N. Effect of chronic treatment with uridine on cardiac mitochondrial dysfunction in the C57BL/6 mouse model of high-fat diet-streptozotocin-induced diabetes. *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (18), 10633 (2022). DOI: 10.3390/ijms231810633
20. Liu Z., Li W., Geng L., Sun L., Wang Q., Yu Y., Yan P., Liang Ch., Ren J., Song M., Zhao Q., Lei J., Cai Yu., Li J., Yan K., Wu Z., Chu Q., Li J., Wang S., Li Ch., Han J.-D. J., Hernandez-Benitez R., Shyh-Chang Ng., Belmonte J. C. I., Zhang W., Qu J., and Liu G.-H., Cross-species metabolomic analysis identifies uridine as a potent regeneration promoting factor. *Cell Discov.*, **8** (1), 6 (2022). DOI: 10.1038/s41421-021-00361-3
21. Yamamoto T., Koyama H., Kurajoh M., Shoji T., Tsutsumi Z., and Moriwaki Y. Biochemistry of uridine in plasma. *Clin. Chim. Acta*, **412** (19–20), 1712–1724 (2011). DOI: 10.1016/j.cca.2011.06.006
22. Krylova I. B., Kachaeva E. V., Rodionova O. M., Negoda A. E., Evdokimova N. R., Balina M. I., Sapronov N. S., and Mironova G. D. The cardioprotective effect of uridine and uridine-5'-monophosphate: the role of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel. *Exp. Gerontol.*, **41** (7), 697–703 (2006). DOI: 10.1016/j.exger.2006.03.005
23. Khunderyakova N. V., Yachkula T. V., Zakharchenko M. V., Plyasunova S. A., Sukhorukov V. S., Baranich, N. I., Litvinova E. G., Fedotcheva N., Schwartsburd P., and Kondrashova M., Cytobiochemical biomarkers of the state of mitochondria in Humans. I. A new assessment of Warburg effect by the ratio of lactate dehydrogenase to succinate dehydrogenase activity in lymphocytes as a distinct biomarker of pronounced differences between leukemia, norm and myopathy in young patients. *J. World Mitochondria Soc.*, **2** (2) (2017). DOI: 10.18143/JWMS_v2i2_1930
24. Nichtova Z., Novotova M., Kralova E., and Stankovicova T. Morphological and functional characteristics of models of experimental myocardial injury induced by isoproterenol. *Gen. Physiol. Biophys.*, **31** (2), 141–151 (2012). DOI: 10.4149/gpb_2012_015
25. Krestinin R., Baburina Y., Odinkova I., Kruglov A., Sotnikova L., and Krestinina O. The Effect of Astaxanthin on Mitochondrial Dynamics in Rat Heart Mitochondria under ISO-Induced Injury. *Antioxidants (Basel)*, **12** (6), 1247 (2023). DOI: 10.3390/antiox12061247
26. Belosludtseva N. V., Pavlik L. L., Mikheeva I. B., Talanov E. Y., Serov D. A., Khurtin D. A., Belosludtsev K. N., and Mironova G. D. Protective Effect of

- Uridine on Structural and Functional Rearrangements in Heart Mitochondria after a High-Dose Isoprenaline Exposure Modelling Stress-Induced Cardiomyopathy in Rats. *Int. J. Mol. Sci.*, **24** (24), 17300 (2023). DOI: 10.3390/ijms242417300
27. Feng W. and Li W. The study of ISO induced heart failure rat model. *Exp. Mol. Pathol.*, **88** (2), 299–304 (2010). DOI: 10.1016/j.yexmp.2009.10.011
 28. Pham V. A., Tran H. Th., Mai Th. Ph., Nguyen L. H., Nguyen V. H., Nguyen Th. H., Bui S. S., Vu A. V., Do H. Th., Trinh Q. V. Myocardial infarction model induced by isoproterenol in rats and potential cardiovascular protective effect of a nattokinase-containing hard capsule. *Phytomed. Plus*, **3**, 100472, 2667–0313 (2023). DOI: 10.1016/j.phyplu.2023.100472
 29. Xu X., Zhang X., Cheng S., Li Q., Chen C., and Ouyang M. Protective effect of uridine on atrial fibrillation: a Mendelian randomisation study. *Sci. Rep.*, **13** (1), 19639 (2023). DOI: 10.1038/s41598-023-47025-8
 30. Cheng T., Wang H., and Hu Y. The causal effects of genetically determined human blood metabolites on the risk of atrial fibrillation. *Front. Cardiovasc. Med.*, **10**, 1211458 (2023). DOI: 10.3389/fcvm.2023.1211458

Study of the Cardioprotective Properties of Uridine-5'-Monophosphate and Uridine in a Rat Model of Myocardial Damage Induced by Isoprenaline

N.V. Belosludtseva*, T.A. Uryupina*, D.A. Khurtin**, N.V. Khunderyakova*, and G.D. Mironova*

*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

**Mari State University, pl. Lenina 1, Yoshkar-Ola, Mari El, 424001 Russia

The effects of uridine and its monophosphoryl derivative both on the level of the main biochemical markers of myocardial damage in the blood and the electrical activity of the heart were investigated in a rat model of cardiomyopathy induced by isoprenaline. It was shown that the administration of isoprenaline (150 mg/kg, subcutaneously) caused an increase in the activity of serum enzymes aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), leading to the elevated AST/ALT ratio or De Ritis ratio, and enhanced activity of lactate dehydrogenase in blood lymphocytes, which confirms the development of myocardial damage in experimental animals. ECG analysis has revealed prolonged RR, P-R, QT, QTc intervals and QRS complex, which indicates that the duration of depolarization and repolarization phases increases relative to the duration of the cardiac cycle in rats with isoprenaline-induced myocardial damage. Preliminary administration of uridine and uridine-5'-monophosphate to experimental animals at a dose of 30 mg/kg equally effectively prevented an increase in the enzymatic activity of AST and the De Ritis ratio, led to a decrease in the duration of P-R, QRS, QT and QTc intervals as well as to partial normalization of metabolic activity of rat blood lymphocytes. These findings suggest that uridine and uridine-5'-monophosphate have a similar protective effect on the contractile function of cardiomyocytes and can be used as agents for metabolic therapy in the treatment of ischemic heart disease.

Keywords: uridine, UMP, cardiomyopathy, isoprenaline, electrocardiography, oxidative phosphorylation, glycolysis