

## ПРЕКОНДИЦИОНИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА АПЕЛИНА-12 В МОДЕЛИ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС

О.М. Веселова, Л.И. Серебрякова, И.М. Студнева, А.А. Азьмуко, Д.В. Авдеев, М.В. Сидорова, О.И. Писаренко\*

Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова,  
121552 Москва, ул. Академика Чазова, 15а; \*эл. почта: olpi@live.ru

Использование фармакологических агентов для запуска механизмов preconditionирования может улучшать профилактику и лечение ишемической болезни сердца. Целью данной работы было оценить способность структурного аналога апеллина-12 ((N<sup>ε</sup>Me)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe-OH, метилина) воспроизводить действие ишемического preconditionирования (ИП) сердца крысы *in vivo*. В контроле использовали 40-мин окклюзию левой нисходящей коронарной артерии (ЛНКА) с последующим 60-мин восстановлением коронарного кровотока (реперфузией). ИП моделировали тремя циклами 5-мин окклюзии / 5-мин реперфузии ЛНКА перед длительной региональной ишемией миокарда и реперфузией. Метилин (5 мг/кг) вводили крысам внутривенно болюсом за 30 мин до окклюзии ЛНКА. Под действием ИП или метилина размер некротического повреждения левого желудочка, выраженный процентным отношением инфаркт миокарда/зона риска (ИМ/ЗР, %), составил в конце реперфузии 26,9±2,0% и 29,3±2,6% соответственно по сравнению с 43,8±1,2% в контроле ( $p < 0,01$ ), активность креатинкиназы-МВ (КК-МВ) в плазме крови снижалась до 1026,1±93,9 МЕ/мл и 1195,2±142,0 МЕ/мл соответственно по сравнению с 1986,3±193,7 МЕ/мл в контроле ( $p < 0,02$ ). Введение метилина, также как и ИП, способствовало увеличению сниженного содержания АТФ, общего фонда адениннуклеотидов ( $\Sigma$ АН) и фосфокреатина (PCr) в ЗР в конце реперфузии по сравнению с контролем ( $p < 0,05-0,01$ ). В группе метилина содержание общего креатина ( $\Sigma$ Cr) в ЗР было более высоким, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Внутривенное введение 5-гидроксидекааноата (5ГД) — ингибитора митохондриальных АТФ-зависимых K<sup>+</sup>-каналов (миток<sub>АТФ</sub>) в дозе 5 мг/кг отменяло preconditionирующее действие метилина, увеличивая отношение ИМ/ЗР, % и активность КК-МВ в плазме до значений, достоверно не отличающихся от контроля (39,4±2,8% и 2258,2±179,1 МЕ/мл соответственно). Одновременно 5ГД достоверно снижал содержание АТФ и  $\Sigma$ АН в ЗР по сравнению с этими показателями в группе метилина и содержание АТФ,  $\Sigma$ АН и PCr по сравнению с группой ИП. Результаты указывают на снижение ишемического/реперфузионного повреждения сердца с помощью фармакологического preconditionирования метилином и участия миток<sub>АТФ</sub> в механизме действия метилина.

**Ключевые слова:** метилин; сердце крысы; preconditionирование; инфаркт миокарда; креатинкиназа-МВ; энергетическое состояние зоны риска

DOI: 10.18097/PBMCR1622

### ВВЕДЕНИЕ

Ишемическое preconditionирование (ИП) является защитным адаптивным ответом сердца на длительный ишемический инсульт и последующую реперфузию [1]. ИП способно уменьшить повреждение миокарда, вызванное, в частности, чрескожным коронарным вмешательством или пережатием аорты во время аортокоронарного шунтирования. Однако его применение, требующее прекращения кровоснабжения, является сложным или непрактичным во многих клинических ситуациях [2]. Фармакологическое preconditionирование (ФП), запускающее внутриклеточную сигнализацию, участвующую в защите сердца, позволяет преодолеть эти проблемы. В экспериментальных работах было показано, что введение до начала устойчивой ишемии миокарда аденозина, опиоидных агонистов, брадикинина, доноров оксида азота или других фармакологических агентов, может активировать сигнальные пути и инициировать кардиопротекторные эффекты, проявляемые при ИП [3]. Однако большинство миметических агентов, уменьшающих

ишемическое/реперфузионное повреждение (ИРП) в моделях на животных, как правило, не обнаруживает кардиопротекторного действия в клинических исследованиях на людях [4, 5]. Причины этого несоответствия связаны с сопутствующими заболеваниями, а также с плохой растворимостью, протеолитической нестабильностью и рядом побочных действий испытанных соединений. В связи с этим актуальным остаётся поиск новых терапевтических мишеней для фармакологического воздействия на ишемический миокард.

Пептид апеллин является эндогенным лигандом трансмембранного рецептора APJ, связанного с G-белком [6]. Система апеллин/APJ рецептор участвует в регуляции функции сердца и сосудов в норме и при патологии. Апеллин-12 представляет собой наименьший фрагмент препропептида апеллина, состоящего из 77 аминокислот, который сохраняет эффективное связывание с рецептором APJ и оказывает кардиопротекторное действие [7]. Мы модифицировали апеллин-12 и синтезировали его структурные аналоги, обладающие большей



© 2025 Коллектив авторов. Лицензиат ИБМХ, Москва. Статья открытого доступа, распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY-SA 4.0) (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

стабильностью при хранении и меньшей протеолитической деградацией [8]. Тестирование этих пептидов показало, что (N<sup>α</sup>Me)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe-OH (метилин) обладает наибольшей биологической активностью [9]. Метилин снижает апоптоз и некроз, уменьшает образование активных форм кислорода (АФК) и улучшает метаболическое и функциональное состояние миокарда при ИРП, доксорубин-индуцируемой кардиомиопатии и сахарном диабете 1 типа [9–11]. При ИРП действие метилина вызвано активацией реперфузионных киназ PI3K/Akt и MEK1/2-ERK1/2, мишенью которых служит митохондриальная пора mPTP (mitochondrial permeability transition pore). Принципиальным звеном в защитном действии метилина на ишемизированный миокард является фосфорилирование эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) в результате активации сигнального пути PI3K/Akt/eNOS [12]. Эти факты свидетельствуют о том, что система метилин/APJ рецептор может служить перспективной мишенью при ФП сердца. Исследования в данном направлении до настоящего времени не проводились.

В связи с этим цель настоящей работы состояла в изучении прекодиционирующих свойств метилина при моделировании острого инфаркта миокарда (ИМ) у крыс *in vivo*. Для этого был выбран оптимальный режим прекодиционирования метилином, при котором мы оценили влияние пептида на размеры ИМ и повреждение мембран кардиомиоцитов, энергетическое состояние зоны риска (ЗР). Полученные данные показывают, что кардиопротекторные эффекты метилина связаны с активацией митохондриальных АТР-зависимых K<sup>+</sup>-каналов (миток<sub>АТР</sub>).

## МЕТОДИКА

### Получение метилина

Автоматический синтез метилина проводили по оптимизированной нами методике на синтезаторе Tribute-UV (“Protein Technologies Inc.”, США) с использованием полимерного носителя (“Tris Biotech”, Германия) с 2-хлор-тригилхлоридной якорной группой и 20% раствора циклического вторичного амина пирролидина в N,N-диметилформамиде для отщепления Fmoc-защиты [13]. По окончании синтеза пептид отщепляли от полимера с одновременным деблокированием функциональных групп аминокислот трифторуксусной кислотой со скэвенджерами в течение 1,5 ч. Технический продукт анализировали и очищали с помощью ВЭЖХ.

Аналитическую ВЭЖХ выполняли на приборе “Knauer” (Германия) с колонкой Диасфер 110-С-18 (“БиоХимМак СТ”, Россия) (4,0×250 мм), размер частиц сорбента 5 мкм. Подвижная фаза: буфер А — 0,05 М КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, рН 3,0, буфер Б — 70% ацетонитрил в буфере А. Элюцию осуществляли со скоростью 0,75 мл/мин в градиенте концентрации буфера Б в буфере А от 20% до 80% за 30 мин, детекцию — при λ = 220 нм. Препаративную ВЭЖХ метилина проводили на приборе “Gilson” (Франция) с колонкой Kromasil-С18 (“Kromasil”, Швеция)

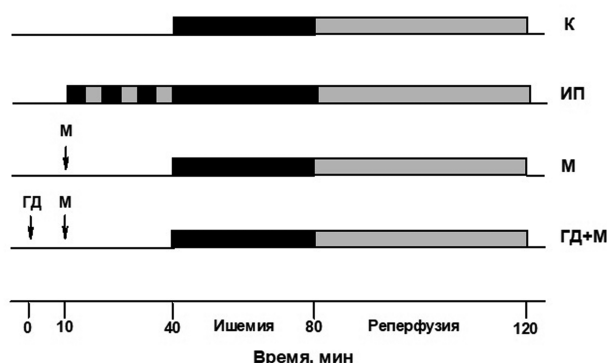
(30×250 мм), размер частиц сорбента — 10 мкм. В качестве элюентов использовали буфер А — 0,01 М водный раствор ацетата аммония, рН 4,5, содержащий 3–5% ацетонитрил, буфер Б — 70% ацетонитрил в буфере А. Элюцию проводили от 100% буфера А в градиенте концентрации 0,5 %/мин буфера Б со скоростью 20 мл/мин. Фракции, соответствующие целевому веществу, объединяли, концентрировали в вакууме и лиофилизовали. Структуру пептида подтверждали методами протонного магнитного резонанса (<sup>1</sup>H-ЯМР) на спектрометре WH-500 Bruker (“Bruker Daltonik GmbH”, Германия) и масс-спектрометрии на приборе Amazon (“Bruker Daltonik GmbH”) методом электрораспылительной ионизации (ESI) в режиме регистрации положительных ионов (напряжения на капилляре — 3500 В). Суммарный выход метилина в расчёте на стартовую аминокислоту, присоединённую к полимерному носителю, составил 72,1%, чистота пептида по данным ВЭЖХ — 98,7% (время удерживания на вышеуказанном сорбенте — 12,5 мин). ESI<sup>+</sup>: найдено *m/z* — 355,44<sup>4+</sup>, 473,82<sup>3+</sup>, 710,05<sup>2+</sup>; вычислено для C<sub>66</sub>H<sub>107</sub>N<sub>21</sub>O<sub>14</sub> — 355,47<sup>4+</sup>, 473,62<sup>3+</sup>, 709,92<sup>2+</sup>.

### Животные

Крысы-самцы линии Wistar массой 300–320 г были получены из питомника “Столбовая” Научного центра биомедицинских технологий (Московская область). Животных содержали в индивидуальных клетках при температуре 20–25°C с естественным циклом света и темноты и свободным доступом к стандартному гранулированному корму и воде.

### Дизайн эксперимента

После 24 ч голодания у 5 крыс определяли активность креатинкиназы-МВ (КК-МВ) в плазме крови, затем наркотизировали 2,2,2-трибромэтанолом (1 мг/кг в/б авертин, “Мерк”, Россия) и выделяли сердца для определения показателей энергетического обмена (n = 5, исходное состояние — группа ИС). Далее 40 крыс случайным образом распределяли на четыре группы по 10 крыс в каждой (рис. 1):



**Рисунок 1.** Схема протокола опытов. К — контроль (40 мин окклюзия ЛНКА и 60 мин реперфузия), ИП — ишемическое прекодиционирование (три цикла 5-мин окклюзии / 5-мин реперфузии ЛНКА перед ишемией), М — введение метилина (5 мг/кг, в/в, б) до ишемии, ГД+М — введение 5-гидроксидеканата (5 мг/кг, в/в, б) и метилина (5 мг/кг, в/в, б) до ишемии.

1) Контроль (К). ИРП сердца моделировали окклюзией левой нисходящей коронарной артерии (ЛНКА) в течение 40 мин с последующим восстановлением коронарного кровотока в течение 60 мин [10].

2) Ишемическое прекондиционирование сердца (ИП). Перед 40-мин региональной ишемией выполняли 3 цикла 5 мин окклюзии / 5 мин реперфузии ЛНКА [12].

3) Прекондиционирование метилином (М). Метилин (5 мг/кг) вводили внутривенно болюсом (в/в, б) за 30 мин до 40-мин окклюзии ЛНКА. В предварительных опытах было установлено, что такой режим введения метилина обеспечивает наибольшее снижение размеров ИМ. (Дозозависимое влияние различных способов введения метилина на величину ИМ представлено в Дополнительных материалах, табл. S1.)

4) Совместное действие 5-гидроксидеканоата (5ГД, “Мерк”) и метилина (ГД+М). 5ГД (5 мг/кг, в/в, б) вводили за 10 мин до в/в метилина (5 мг/кг, в/в, б). Дозы и режим введения 5ГД были заимствованы из литературы [14]. В предварительных опытах было установлено, что введение одного 5ГД в дозе 1,0 мг/кг или 5,0 мг/кг не влияло на размер ИМ и активность КК-МВ в плазме (Дополнительные материалы, табл. S2).

По окончании реперфузии у пяти животных каждой из четырёх групп определяли активность КК-МВ в плазме крови и гистохимическим методом оценивали размеры ИМ и ЗР. У пяти оставшихся крыс из этих групп выделяли ЗР и замораживали её в жидком азоте с использованием щипцов Волленбергера для последующего анализа метаболитов энергетического обмена.

#### *Модель региональной ишемии и реперфузии сердца крысы*

Крыс наркотизировали 20% уретаном (1200 мг/кг веса, в/б) и в условиях торакотомии осуществляли искусственную вентиляцию лёгких комнатным воздухом с помощью аппарата KTR-5 (“Hugo Sacks Electronik”, Германия). Контроль среднего артериального давления и частоты сокращений сердца, ЭКГ и запись этих показателей в ходе опыта на компьютер были выполнены с помощью аналого-цифрового преобразователя USB 6210 (“National Instruments”, США) и программы в системе LabView 7 (“National Instruments”) [15]. После окончания препарирования следовал период стабилизации гемодинамических показателей. Затем животных подвергали 40-мин окклюзии ЛНКА и последующей 60-мин реперфузии. В конце опыта для идентификации ЗР и интактной области миокарда реокклюдировали ЛНКА и в яремную вену вводили 2 мл 2% раствора Evans Blue (“Мерк”). Затем вырезали сердце, выделяли левый желудочек (ЛЖ) для определения размеров ИМ и замораживали при -20°C.

#### *Оценка повреждения мембран кардиомиоцитов*

Повреждение мембран кардиомиоцитов оценивали по увеличению активности КК-МВ в плазме

крови в конце реперфузии. 0,5 мл крови собирали в гепаринизированные пробирки из венозного катетера в исходном состоянии (перед окклюзией ЛНКА) и после 1 ч реперфузии. Активность КК-МВ в плазме определяли, используя набор фирмы “BioSystems” (Испания), на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (“Shimadzu”, Япония) при  $\lambda = 340$  нм.

#### *Определение размеров инфаркта миокарда*

Замороженный ЛЖ разрезали перпендикулярно длинной оси сердца на 4–5 срезов толщиной около 1,5–2,0 мм, которые затем инкубировали 10 мин в 1% растворе 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТФТ, “Мерк”) в 0,1 М калий-фосфатном буфере (рН 7,4 при 37°C). Гистохимическая оценка размеров ИМ с помощью ТФТ основана на образовании нерастворимого пигмента красного цвета — формазана при восстановлении ТФТ под действием дегидрогеназ, связанных с коферментами NAD<sup>+</sup> и NADP<sup>+</sup>. В результате интактная область ЛЖ была окрашена в тёмно-синий цвет, неповреждённая область ЗР — в красный, а зона ИМ оставалась неокрашенной (телесного цвета). Полученные образцы сканировали с обеих сторон на сканере Epson Perfection 2480 (Япония), площади ИМ и ЗР определяли методом компьютерной планиметрии, используя программу ImageJ (“NIH”, США). После этого срезы взвешивали для определения массы ЛЖ. В каждой группе рассчитывали отношения ЗР/ЛЖ и ИМ/ЗР в % [15].

#### *Определение содержания метаболитов в зоне риска сердца*

Замороженную в жидком азоте ткань ЗР гомогенизировали в холодной 6% HClO<sub>4</sub> (10 мл/г ткани) в гомогенизаторе Ultra-Turrax T-25 (“IKA-Labortechnik”, Германия). Белки осаждали центрифугированием (центрифуга Sorvall RT1, “Thermo Fisher Scientific”, США) при 2800 g в течение 10 мин при 4°C. Супернатанты нейтрализовали 5 М K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> до рН 7,4. Осадок KClO<sub>4</sub> отделяли центрифугированием в тех же условиях. Безбелковые экстракты хранили при -70°C до определения метаболитов. Сухой вес гомогенизированной ткани определяли после высушивания образцов в течение суток при 100°C. Содержание АТФ, АДФ, АМР, фосфокреатина (PCr) и креатина (Cr) в тканевых экстрактах определяли модифицированными энзиматическими методами [16], используя спектрофотометр Shimadzu UV-1800.

#### *Статистическая обработка данных*

В работе использован пакет программ SigmaPlot 11.2 (“SysStat”, США). Значения представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения (M±SEM). Различия между группами подтверждены статистически с применением дисперсионного анализа (ANOVA). При сравнении нескольких групп с контролем использован *t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Отличия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Уменьшение ИРП сердца  
прекондиционированием метилином

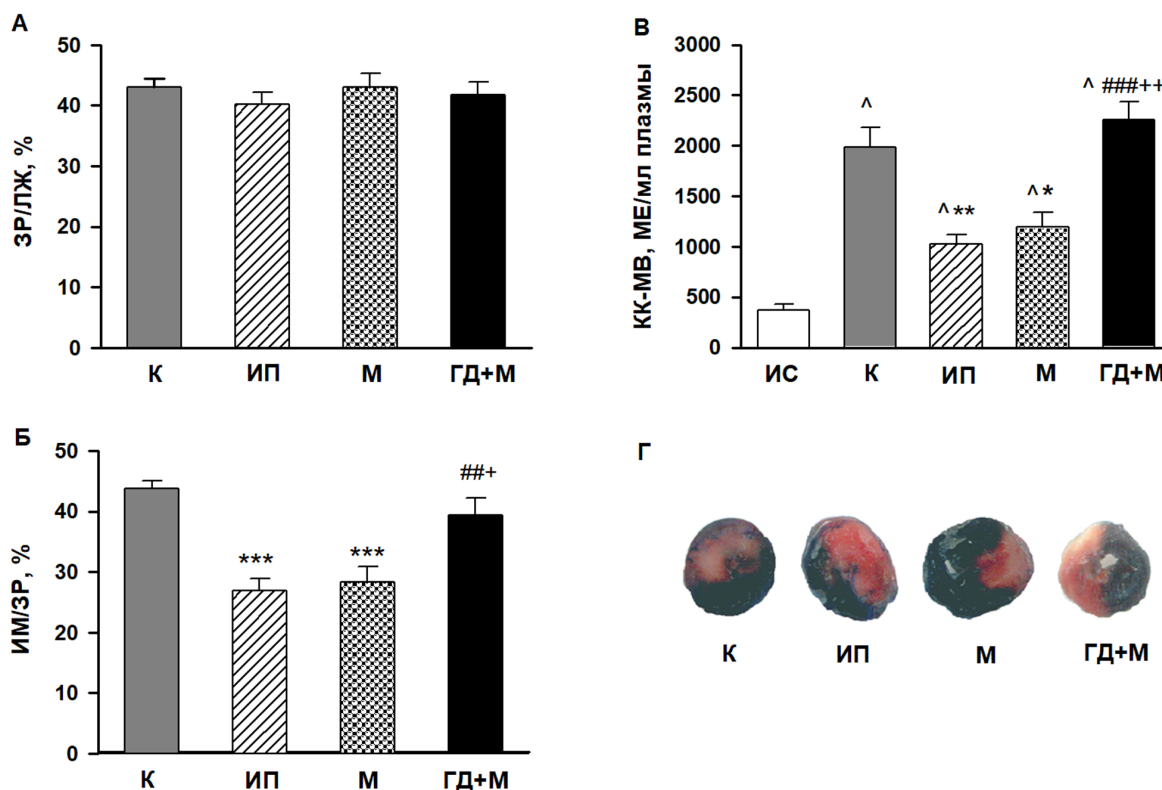
Гистохимический анализ срезов ЛЖ после реперфузии не выявил достоверных различий в ЗР между контролем и группами ИП, М и ГД+М (рис. 2А). Это означает, что ИРП было моделировано одинаково у всех животных. В контроле величина ИМ, выраженная отношением ИМ/ЗР в %, составила  $43,8 \pm 1,2\%$  (рис. 2Б). Под действием ИП или метилина (5 мг/кг в/в, б за 30 мин до региональной ишемии) размер некротического повреждения ЛЖ составил в конце реперфузии  $26,9 \pm 2,0\%$  и  $29,3 \pm 2,6\%$  соответственно ( $p < 0,01$  по сравнению с контролем). В/в введение 5ГД (5 мг/кг) за 10 мин до метилина отменяло preconditionирующее действие пептида, увеличивая размеры ИМ до величины, достоверно не отличающейся от контроля ( $39,4 \pm 2,8\%$ ).

Развитие ИМ в контроле сопровождалось увеличением активности КК-МВ в плазме к концу реперфузии в 5 раз по сравнению с исходным состоянием (рис. 2В). Под действием ИП и метилина активность КК-МВ в плазме в конце реперфузии была снижена на 48,4% ( $p < 0,01$ ) и 39,8% ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с контролем. Введение 5ГД перед болюсной инъекцией метилина увеличивало активность КК-МВ в плазме до значения, не отличающегося от такового в контроле

( $2258,2 \pm 179,1$  МЕ/мл плазмы). На рисунке 2Г показана локализация ЗР в срезах ЛЖ после их окрашивания ТФТ. Увеличение образования пигмента красного цвета формазана в результате восстановления ТФТ  $\text{NAD}^+$ - и  $\text{NADP}^+$ -зависимыми дегидрогеназами в группах ИП и М указывало на снижение размеров ИМ под действием ишемического и фармакологического preconditionирования.

Влияние метилина на энергетическое состояние  
зоны риска

В таблице 1 показатели энергетического состояния ЗР ЛЖ в конце реперфузии в изученных группах сопоставлены с исходным содержанием метаболитов энергетического обмена. Моделирование ишемического/реперфузионного повреждения (ИРП) вызывало значительные изменения в содержании адениннуклеотидов и системы  $\text{PCr-Cr}$  в ЗР к концу реперфузии в контроле. Содержание АТФ и общего фонда адениннуклеотидов ( $\Sigma\text{AN}$ ) было снижено в 2 и 1,5 раза соответственно. Содержание  $\text{PCr}$  было снижено на 40%, что при практически неизменном уровне свободного  $\text{Cr}$  вызывало уменьшение общего внутриклеточного креатина ( $\Sigma\text{Cr}$ ) на 25% по сравнению с исходным состоянием. Под действием ИП  $\Sigma\text{AN}$  в ЗР достоверно увеличивался по сравнению с контролем за счёт возрастания содержания АТФ; одновременно отмечено увеличение уровня  $\text{PCr}$  (на 30% по сравнению с контролем,  $p < 0,01$ ).



**Рисунок 2.** Влияние ишемического preconditionирования, метилина и 5-гидроксидеаноата на повреждение миокарда при региональной ишемии и реперфузии сердца у крыс. **А** – размеры зоны риска; **Б** – размеры инфаркта миокарда; **В** – активность креатинкиназы-МВ в плазме крови; **Г** – окраска срезов ЛЖ 2,3,5-трифенилтетразолий хлоридом в конце реперфузии. ИС – исходное состояние, К – контроль, ИП – ишемическое preconditionирование, М – введение метилина до ишемии, ГД+М - введение 5-гидроксидеаноата и метилина до ишемии. Отличается от: ИС <sup>^</sup> $p < 0,001$ ; К <sup>\*</sup> $p < 0,05$ , <sup>\*\*</sup> $p < 0,01$ , <sup>\*\*\*</sup> $p < 0,001$ ; ИП <sup>#</sup> $p < 0,05$ , <sup>##</sup> $p < 0,01$ , <sup>###</sup> $p < 0,001$ ; М <sup>+</sup> $p < 0,05$ , <sup>++</sup> $p < 0,01$ .

## ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ МЕТИЛИНОМ

Таблица 1. Показатели энергетического состояния миокарда крыс

	ИС	К	ИП	М	ГД+М
АТР	20,58±1,09	10,74±0,76 <sup>^^</sup>	15,02±0,62 <sup>^^***</sup>	13,87±0,58 <sup>^^^*</sup>	11,98±0,72 <sup>^^^#,+</sup>
ADP	5,42±0,38	5,05±0,33	5,43±0,10	5,47±0,27	4,81±0,13 <sup>##</sup>
AMP	0,98±0,10	1,43±0,24	1,26±0,15	1,45±0,11 <sup>^</sup>	1,07±0,04 <sup>+</sup>
ΣAN	26,98±1,25	17,11±0,81 <sup>^^</sup>	21,71±0,77 <sup>^^***</sup>	20,80±0,65 <sup>^^**</sup>	17,86±0,82 <sup>^^^#,+</sup>
PCr	31,68±1,73	19,29±1,19 <sup>^^</sup>	27,35±1,42 <sup>**</sup>	24,72±1,31 <sup>^*</sup>	21,38±1,14 <sup>^^^#</sup>
Cr	26,15±1,17	24,81±1,25	21,49±1,80	23,91±1,12	23,43±0,87
ΣCr	57,83±1,85	43,90±1,37 <sup>^^</sup>	48,84±2,23 <sup>^</sup>	48,64±1,46 <sup>^^*</sup>	44,81±1,29 <sup>^^</sup>

Примечание. Данные выражены для метаболитов в мкмоль/г сух. веса. ИС – исходное состояние, К – контроль, ИП – ишемическое preconditionирование, М – preconditionирование метилином (5 мг/кг), ГД+М – введение 5-гидроксидеканоата (5 мг/кг) и метилина (5 мг/кг) до региональной ишемии. ΣAN = АТР+ADP+AMP; ΣCr = PCr+Cr. Достоверно отличается от ИС <sup>^</sup>*p* < 0,05; <sup>^^</sup>*p* < 0,01; <sup>^^^</sup>*p* < 0,001; от К <sup>\*</sup>*p* < 0,05; <sup>\*\*</sup>*p* < 0,01; <sup>\*\*\*</sup>*p* < 0,001; от ИП <sup>#</sup>*p* < 0,05; <sup>##</sup>*p* < 0,01; от М <sup>+</sup>*p* < 0,05.

Введение метилина перед окклюзией ЛНКА оказывало сходное с ИП действие на систему адениннуклеотидов ЗР — увеличивало содержание АТР и ΣAN (*p* < 0,05 и *p* < 0,01 соответственно) и не влияло на уровни ADP и AMP. Preconditionирование метилином увеличивало содержание PCr в ЗР, которое сопровождалось увеличением ΣCr по сравнению с контролем (*p* < 0,05). В целом метилин улучшал энергетические показатели ЗР в той же степени, что и ИП. Введение 5ГД перед метилином снижало содержание макроэргических фосфатов и ΣCr до значений в контроле. В группе ГД+М содержание АТР, ADP, ΣAN и PCr было достоверно ниже, чем после ИП, а также ниже, чем содержание АТР, AMP и ΣAN по сравнению с этими показателями в группе preconditionирования метилином. Эти данные указывают на блокирование 5ГД действия метилина, имитирующего ИП, на энергетику повреждённого миокарда.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Использование фармакологических препаратов различной химической природы для запуска механизмов preconditionирования позволяет существенно улучшить профилактику и лечение ишемической болезни сердца [17]. Способность природных и модифицированных С-концевых фрагментов апелина повышать сократительную функцию сердца и устойчивость миокарда к ИП подтверждена на различных экспериментальных моделях — изолированных кардиомиоцитах и клетках H9c2 [9, 18–20], изолированном перфузируемом сердце крысы [21–24], инфаркте миокарда у лабораторных животных *in vivo* [25, 26]. В этих опытах апелины вводили перед длительной ишемией/гипоксией, что предполагает возможность их использования в качестве preconditionирующих агентов. Для проведения настоящей работы был выбран структурный аналог апелина-12 — метилин. Его преимуществом по сравнению с природными аналогами С-концевых фрагментов апелина

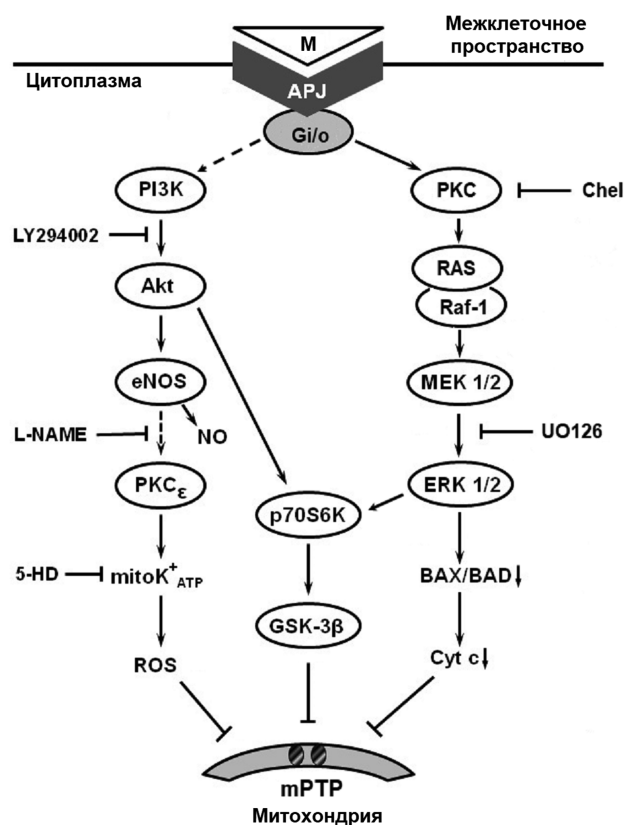
является большая стабильность по отношению к протеолитическим ферментам при сохранении вазодилатационной активности и антиоксидантных свойств [8, 10]. В данной работе использовали общепринятый протокол для моделирования ИП — три цикла 5-мин окклюзии / 5-мин реперфузии коронарной артерии перед длительной ишемией [12] и оценку действия метилина в этих условиях.

Настоящая работа впервые демонстрирует эффекты ФП метилином сердца крыс, подвергнутых региональной ишемии и реперфузии *in vivo*. Они заключались в снижении размера ИМ по сравнению с контролем, которое не отличалось от такового после ИП, в уменьшении активности КК-МВ в плазме к концу реперфузии и в улучшении энергетического состояния реперфузированного миокарда. Предварительное введение 5ГД — ингибитора митоK<sub>АТР</sub> — отменяло/уменьшало влияние метилина на вышеперечисленные показатели. Из этого следует, что митоK<sub>АТР</sub> каналы, являющиеся основным сигнальным элементом preconditionирования [27], включены в механизмы ФП метилином. Существенно, что митоK<sub>АТР</sub> участвуют в действии метилина на энергетическое состояние реперфузированной ЗР. Полагают, что открытие митоK<sub>АТР</sub> может привести к деполяризации митохондриальной мембраны, вызывая рассеивание митохондриального потенциала и снижение движущей силы для захвата Ca<sup>2+</sup>, а также к сохранению функции митохондрий во время ишемии и реперфузии [28]. Кроме того, снижение нагрузки митохондрий Ca<sup>2+</sup> предотвращает открытие mPTP, которое ингибирует окислительное фосфорилирование и способствует высвобождению проапоптотических белков [3]. Вероятно, стимуляция митоK<sub>АТР</sub> метилином может быть перспективной терапевтической стратегией для снижения ишемических/реперфузионных повреждений, особенно в сердцах с повреждёнными K<sub>АТР</sub> каналами.

Исследования последних лет показали, что С-концевые фрагменты апелина связываются с рецептором APJ, сопряжённым с G-белком, на поверхности кардиомиоцитов и активируют

внутриклеточные каскады передачи сигнала, которые включают PI3K-Akt, Erk1/2 и факторы транскрипции, такие как фактор, индуцируемый гипоксией (HIF1). Активация этих медиаторов приводит к открытию митоK<sub>АТР</sub> [10]. Ранее на модели изолированного сердца крысы, подвергнутого глобальной ишемии и реперфузии, мы обнаружили, что введение специфических ингибиторов митоген-активируемой протеинкиназы 1/2 (MEK1/2) (UO126), фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) (LY294002), NO-синтазы (L-NAME) или митоK<sub>АТР</sub> (5ГД) снижает кардиопротекторную эффективность метилина, введённого в перфузат непосредственно перед ишемией [29]. На это указывало снижение произведения давления, развиваемого ЛЖ, на частоту сердечных сокращений, сердечного выброса и повышение диастолического давления в ЛЖ при реперфузии. Ухудшение восстановления показателей функции изолированного сердца крысы сопровождалось снижением энергетического состояния миокарда и увеличением выведения ЛДГ в перфузат на ранней реперфузии. Было выяснено, что усиление функционального и метаболического восстановления реперфузируемого сердца крысы в результате введения метилина до ишемии, подавляется ингибиторами фосфолипазы С (PLC) (U-73122), протеинкиназы С (PKC) (хелеритрином) или ингибиторами сарколеммального обмена Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> (амилоридом или KB-R7943 соответственно). Сходное действие этих ингибиторов сигнальной трансдукции и конечных эффекторов было показано для апелина-12, апелина-13, [Pyr1] апелина-13, апелина-17 и апелина-36 в различных моделях ИПП сердца [18, 24, 25, 30–32]. Это убедительно свидетельствует о том, что синтетический агонист рецептора APJ метилин запускает те же сигнальные каскады, которые инициируются природными С-концевыми фрагментами апелина. Таким образом, наиболее вероятно, что ФП метилином опосредовано сигнализацией через PLC и киназы выживания — PI3K и MEK1/2 с активацией нижестоящих мишеней — NO-синтазы и митоK<sub>АТР</sub> (рис. 3). В то же время не исключено существования альтернативных защитных механизмов ФП метилином, связанных с его антиоксидантными свойствами [10].

Некоторые ограничения нашего исследования могут быть связаны с тем, что 5ГД не является специфическим блокатором митоK<sub>АТР</sub>. Так, Hanley и соавт. показали, что 5ГД активируется внутри митохондрий и далее метаболизирует посредством β-окисления [33]. 5ГДCoA, как известно, связывается с аденинуклеотидтранслоказой и ацетил-СоА-карбоксилазой, тем самым ингибируя их активность [34]. Результатом такого воздействия 5ГД на метаболизм постишемического сердца может быть усугубление ИПП [35]. Однако введение одного 5ГД не влияло на размер ИМ и активность КК-МВ в наших экспериментах (Дополнительные материалы, табл. S2). Эти результаты позволяют пренебречь неспецифическими метаболическими эффектами 5ГД, показывая, что его действие связано с ингибированием митоK<sub>АТР</sub>.



**Рисунок 3.** Активация внутриклеточной сигнализации прекодиционированием метилином предупреждает открытие митохондриальной поры (mPTP) в ишемизированном кардиомиоците. Ras – семейство малых G-белков; MEK1/2 – киназа митоген-активируемой протеинкиназы (MAP2K); ERK1/2 – киназа, регулируемая внеклеточными сигналами; BAX/BAD – проапоптотические белки; Cyt c – цитохром c; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; Akt – протеинкиназа B; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; PKCε – ε-изоформа протеинкиназы C; mитоK<sub>АТР</sub> – митохондриальные АТР-зависимые K<sup>+</sup>-каналы; GSK-3β – киназа гликогенсинтазы 3β; p70S6K – рибосомная протеиновая киназа S6 β1; Chel – хелеритрин; АФК – активные формы кислорода; LY294002 – селективный ингибитор PI3K; Raf-1 – серин/треониновая протеинкиназа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Апелинергическая система является перспективной терапевтической мишенью при сердечно-сосудистых заболеваниях. Короткий период полураспада природных С-концевых фрагментов апелина [36] предполагает необходимость создания модифицированных аналогов апелина, которые менее подвержены деградации в биологических системах и не теряют своей эффективности при связывании с рецептором APJ. Приведённые результаты показывают, что протеолитически устойчивый метилин способен воспроизводить прекодиционирующие эффекты апелина-12 при моделировании ИПП миокарда у крыс *in vivo*. Помимо снижения размеров ИМ, этот пептид повышает содержание макроэргических фосфатов в повреждённой области сердца при реперфузии и

уменьшает повреждение мембран кардиомиоцитов. С помощью 5ГД подтверждено участие митоK<sub>ATP</sub> в передаче сигнала, обеспечивающего кардиопротекторные эффекты метилина. Метилин может быть инструментом для лечения ИРП не только сердца, но и других жизненно важных органов. Эта точка зрения хорошо согласуется со способностью апелина-13 оказывать защитное действие при ИРП почки [37]. При церебральном ИРП апелин-13 и апелин-36 защищают нейроны и ингибируют повреждение, вызванное воспалением, активируя путь PI3K/Akt [38, 39]. Очевидно, что изучение механизмов фармакологического пре- и посткондиционирования модифицированными пептидами апелина может быть важной задачей будущих исследований.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минздрава России (Госзадание № 125022803024-3).

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование проведено в соответствии с основными правилами, изложенными в документах, регламентирующих проведение экспериментов на лабораторных животных и условия их содержания (Хельсинкская декларация, 2000, Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации (утверждены МЗ РФ 29.12.98), ОСТ 42-511-99, Правила лабораторной практики в Российской Федерации (утверждены приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 N 267).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дополнительные материалы доступны в электронной версии статьи на сайте журнала ([pbmc.ibmc.msk.ru](http://pbmc.ibmc.msk.ru)).

### ЛИТЕРАТУРА

- Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. (1986) Preconditioning with ischemia: a delay of lethal injury in ischemic myocardium. *Circulation*, **74**(5), 1124–1136. DOI: 10.1161/01.cir.74.5.1124
- Basati G., Sepahvand H., Ghanadi P., Abbaszadeh S., Sedighi M. (2020) Pharmacology for preconditioning in clinical studies. *Res. J. Pharm. Technol.*, **13**(8), 4015–4022. DOI: 10.5958/0974-360X.2020.00710.6
- Cohen M.V., Downey J.M. (2015) Signalling pathways and mechanisms of protection in pre- and postconditioning: historical perspective and lessons for the future. *Br. J. Pharmacol.*, **172**(8), 1913–1932. DOI: 10.1111/bph.12903
- Sack M.N., Murphy E. (2011) The role of comorbidities in cardioprotection. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, **16**(3–4), 267–272. DOI: 10.1177/1074248411408313
- Ferdinandy P., Schulz R., Baxter G.F. (2007) Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol. Rev.*, **59**(4), 418–458. DOI: 10.1124/pr.107.06002
- Kinjo T., Higash H., Un K., Kuramoto N. (2021) Apelin/apelin receptor system molecular characteristics, physiological roles, and prospects as a target for disease prevention and pharmacotherapy. *Curr. Mol. Pharmacol.*, **14**(2), 210–221. DOI: 10.2174/1874467213666200602133032
- Ashley E.A., Powers J., Chen M., Kundu R., Finsterbach T., Caffarelli A., Deng A., Eichhorn J., Mahajan R., Agrawal R., Greve J., Robbins R., Patterson A.J., Bernstein D., Quertermous T. (2005) The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading *in vivo*. *Cardiovasc. Res.*, **65**(1), 73–82. DOI: 10.1016/j.cardiores.2004.08.018
- Сидорова М.В., Азьмуко А.А., Палькеева М.Е., Молокоедов А.С., Бушувев В.Н., Дворянцев С.Н., Шбульженко В.С., Пелогейкина Ю.А., Писаренко О.И., Беспалова Ж.Д. (2012) Синтез и изучение кардиопротекторных свойств апелина-12 и его структурных аналогов. *Биоорганическая химия*, **38**(1), 40–51. [Sidorova M.V., Az'muko A.A., Pal'keeva M.E., Molokoedov A.S., Bushuev V.N., Dvoryantsev S.N., Shulzhenko V.S., Pelogeykina Yu.A., Pisarenko O.I., Bepalova Zh.D. (2012) Synthesis and cardioprotective properties of apelin-12 and its structural analogs. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **38**(1), 30–40.] DOI: 10.1134/S1068162012010177
- Pisarenko O., Shulzhenko V., Studneva I., Pelogeykina Y., Timoshin A., Anesia R., Valet P., Parini A., Kunduzova O. (2015) Structural apelin analogues: mitochondrial ROS inhibition and cardiometabolic protection in myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Br. J. Pharmacol.*, **172**, 2933–2945. DOI: 10.1111/bph.13038
- Писаренко О.И., Студнева И.М. (2023) С-концевые фрагменты апелина: биологические свойства и терапевтический потенциал. *Биохимия*, **88**(11), 2271–2288. [Pisarenko O.I., Studneva I.M. (2023) C-terminal fragments of apelin: biological properties and therapeutic potential. *Biochemistry (Moscow)*, **88**(11), 2271–2288.] DOI: 10.31857/S0320972523110179
- Студнева И.М., Веселова О.М., Доброхотов И.В., Серебрякова Л.И., Палькеева М.Е., Авдеев Д.В., Молокоедов А.С., Сидорова М.В., Писаренко О.И. (2024) Структурный аналог апелина-12 препятствует нарушениям энергетики сердца при экспериментальном сахарном диабете 1 типа. *Биомедицинская химия*, **70**(3), 135–144. [Studneva I.M., Veselova O.M., Dobrokhotov I.V., Serebryakova L.I., Palkeeva M.E., Avdeev D.V., Molokoedov A.S., Sidorova M.V., Pisarenko O.I. (2024) The structural analogue of apelin-12 prevents energy disorders in the heart in experimental type 1 diabetes mellitus. *Biomeditsinskaya Khimiya*, **70**(3), 135–144.] DOI: 10.18097/PBMC20247003135
- Valtchanova-Matchouganska A., Gondwe M., Nadar A. (2004) The role of C-reactive protein in ischemia/reperfusion injury and preconditioning in a rat model of myocardial infarction. *Life Sci.*, **75**(8), 901–910. DOI: 10.1016/j.lfs.2003.12.029
- Климова М.В., Молокоедов А.С., Овчинников М.В., Палькеева М.Е., Кожокарь Ю.С., Авдеев Д.В., Сидорова М.В. (2025) Сравнение альтернативных пиперидину деблокирующих агентов в твердофазном синтезе инграмона и метилина. *Биоорганическая химия*, **51**(4), 678–687. [Klimova M.V., Molokoedov A.S., Ovchinnikov M.V., Palkeeva M.E., Kozhokar Yu.S.,

- Avdeev D.V., Sidorova M.V. (2025) Comparison of alternative piperidine deblocking agents in the solid-phase synthesis of ingramon and methylin. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **51**(4), 1725–1733. DOI: 10.1134/S1068162025602733
14. Schultz J.E., Qian Y.Z., Gross G.J., Kukreja R.C. (1997) The ischemia-selective KATP channel antagonist, 5-hydroxydecanoate, blocks ischemic preconditioning in the rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **29**(3), 1055–1060. DOI: 10.1006/jmcc.1996.0358
  15. Шульженко В.С., Серебрякова Л.И., Студнева И.М., Пелогейкина Ю.А., Веселова О.М., Молокоедов А.С., Овчинников М.В., Палькеева М.Е., Сидорова М.В., Писаренко О.И. (2016) Способность N-концевого фрагмента нейропептида галанина уменьшать ишемическое и реперфузионное повреждение сердца крысы. *Кардиологический вестник*, **11**(3), 12–21. [Schulzhenko V.S., Serebryakova L.I., Studneva I.M., Pelogeykina Yu.A., Veselova O.M., Molokoedov A.S., Ovchinnikov M.V., Palkeeva M.E., Sidorova M.V. (2016) Ability of N-terminal fragment of neuropeptide galanin to attenuate ischemia and reperfusion injury of rat heart. *Russian Cardiology Bulletin*, **11**(3), 12–21.]
  16. Bergmeyer H.U. (ed.) (1974) *Methods of Enzymatic Analysis*, 4th edn, New York, Academic Press, pp. 1196–1200, 1475–1478, 1772–1776, 1777–1781, 2101–2110.
  17. Левченко О.С., Новиков В.Е. (2016) Возможности фармакологического preconditionирования. *Вестник Российской Академии Медицинских Наук*, **71**(1), 16–24. [Levchenkova O.S., Novikov V.E. (2016) Possibilities of pharmacological preconditioning. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, **71**(1), 16–24.] DOI: 10.15690/vramn626
  18. Yang S., Li H., Tang L., Ge G., Ma J., Qiao Z., Liu H., Fang W. (2015) Apelin-13 protects the heart against ischemia-reperfusion injury through the RISK-GSK-3 $\beta$ -mPTP pathway. *Arch. Med. Sci.*, **11**(5), 1065–1073. DOI: 10.5114/aoms.2015.54863
  19. Zeng X.J., Zhang L.K., Wang H.X., Lu L.Q., Ma L.Q., Tang C.S. (2009) Apelin protects heart against ischemia/reperfusion injury in rat. *Peptides*, **30**(6), 1144–1152. DOI: 10.1016/j.peptides.2009.02.010
  20. Wang C., Du J.-F., Wu F., Wang H.-C. (2008) Apelin decreases the SR Ca<sup>2+</sup> content but enhances the amplitude of [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> transient and contractions during twitches in isolated rat cardiac myocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **294**(6), H2540–H2546. DOI: 10.1152/ajpheart.00046.2008
  21. Abbasloo E., Najafipour H., Vakili A. (2020) Chronic treatment with apelin, losartan and their combination reduces myocardial infarct size and improves cardiac mechanical function. *Clin. Exper. Pharmacol. Physiol.*, **47**(3), 393–402. DOI: 10.1111/1440-1681.13195
  22. Pisarenko O.I., Shulzhenko V.S., Pelogeykina Yu.A., Studneva I.M. (2015) Enhancement of crystalloid cardioplegic protection by structural analogs of apelin-12. *J. Surg. Res.*, **194**(1), 18–24. DOI: 10.1016/j.jss.2014.11.007
  23. Wang C., Liu N., Luan R., Li Y., Wang D., Zou W., Xing Y., Tao L., Cao F., Wang H. (2013) Apelin protects sarcoplasmic reticulum function and cardiac performance in ischaemia-reperfusion by attenuating oxidation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase and ryanodine receptor. *Cardiovasc. Res.*, **100**(1), 114–124. DOI: 10.1093/cvr/cvt160
  24. Pisarenko O.I., Shulzhenko V.S., Pelogeykina Yu.A., Studneva I.M., Khatri D.N. (2010) Apelin-12 improves metabolic and functional recovery of rat heart after global ischemia. *Health*, **2**(8), 927–934. DOI: 10.4236/health.2010.28137
  25. Simpkin J.C., Yellon D.M., Davidson S.M., Lim S.Y., Wynne A.M., Smith C.C.T. (2007) Apelin-13 and apelin-36 exhibit direct cardioprotective activity against ischemia-reperfusion injury. *Basic Res. Cardiol.*, **102**(6), 518–528. DOI: 10.1007/s00395-007-0671-2
  26. Пелогейкина Ю.А., Серебрякова Л.И., Студнева И.М., Хатри Д.Н., Цкитишвили О.В., Азьмуко А.А., Сидорова М.В., Палькеева М.Е., Беспалова Ж.Д., Писаренко О.И. (2012) Влияние C-концевого фрагмента адипокина апелина на экспериментальное ишемическое и реперфузионное повреждение сердца. *Кардиологический вестник*, **7**(2), 29–35. [Pelogeykina Yu.A., Serebryakova L.I., Studneva I.M., Khatri D.N., Tskitishvili O.V., Az'muko A.A., Sidorova M.V., Palkeeva M.V., Bepalova Sh.D., Pisarenko O.I. (2012) Effect of C-terminal fragment of adipokine apelin on experimental cardiac ischemic and reperfusion damage. *Russian Cardiology Bulletin*, **7**(2), 29–35.]
  27. Ardehali H., O'Rourke B. (2005) Mitochondrial K(ATP) channels in cell survival and death. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **39**(1), 7–16. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2004.12.003
  28. Tinker A., Aziz Q., Thomas A. (2014) The role of ATP-sensitive potassium channels in cellular function and protection in the cardiovascular system. *Br. J. Pharmacol.*, **171**(1), 12–23. DOI: 10.1111/bph.12407
  29. Pisarenko O.I., Shulzhenko V.S., Studneva I.M., Serebryakova L.I., Pelogeykina Yu.A., Veselova O.M. (2015) Signaling pathways of a structural analogue of apelin-12 involved in myocardial protection against ischemia/reperfusion injury. *Peptides*, **73**, 67–76. DOI: 10.1016/j.peptides.2015.09.001
  30. Rastaldo R., Cappello S., Folino A., Berta G.N., Sprio A.E., Losano G., Samaja M., Pagliaro P. (2011) Apelin-13 limits infarct size and improves cardiac postischemic mechanical recovery only if given after ischemia. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **300**(6), H2308–H2315. DOI: 10.1152/ajpheart.01177.2010
  31. Tao J., Zhu W., Li Y., Xin P., Li J., Liu M., Li J., Redington A.N., Wei M. (2011) Apelin-13 protects the heart against ischemia-reperfusion injury through inhibition of ER-dependent apoptotic pathways in a time-dependent fashion. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **301**(4), H1471–H1486. DOI: 10.1152/ajpheart.00097.2011
  32. Perjés Á., Skoumal R., Tenhunen O., Kónyi A., Simon M., Horváth I.G., Kerkelä R., Ruskoaho H., Szokodi I. (2014) Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C $\epsilon$ - and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms. *PLOS One*, **9**(4), e93473. DOI: 10.1371/journal.pone.0093473
  33. Hanley P.J., Gopalan K.V., Lareau R.A., Srivastava D.K., Meltzer V.M., Daut J. (2003)  $\beta$ -Oxidation of 5-hydroxydecanoate, a putative blocker of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels. *J. Physiol.*, **547**(Pt 2), 387–393. DOI: 10.1113/jphysiol.2002.037044
  34. Lim K.H.H., Javadov S.A., Das M., Clarke S.J., Suleiman M.S., Halestrap A.P. (2002) The effects of ischaemic preconditioning, diazoxide and 5-hydroxydecanoate on rat heart mitochondrial volume and respiration. *J. Physiol.*, **545**(3), 961–974. DOI: 10.1113/jphysiol.2002.031484
  35. Lopaschuk G.D. (1997) Alterations in fatty acid oxidation during reperfusion of the heart after myocardial ischemia. *Am. J. Cardiol.*, **80**(3A), 11A–16A. DOI: 10.1016/s0002-9149(97)00453-0
  36. Japp A.G., Cruden N.L., Barnes G., van Gemenen N., Mathews J., Adamson J., Johnston N.R., Denvir M.A., Megson I.L., Flapan A.D., Newby D.E. (2010) Acute

- cardiovascular effects of apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure. *Circulation*, **121**(16), 1818–1827. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.911339
37. Chen H., Wan D., Wang L., Peng A., Xiao H., Petersen R.B., Liu C., Zheng L., Huang K. (2015) Apelin protects against acute renal injury by inhibiting TGF- $\beta$ 1. *Biochim. Biophys. Acta*, **1852**(7), 1278–1287. DOI: 10.1016/j.bbadis.2015.02.013
38. Gu Q., Zhai L., Feng X., Chen J., Miao Z., Ren L., Qian X., Yu J., Li Y., Xu X., Liu C.-F. (2013) Apelin-36, a potent peptide, protects against ischemic brain injury by activating the PI3K/Akt pathway. *Neurochem. Int.*, **63**(6), 535–540. DOI: 10.1016/j.neuint.2013.09.017
39. Xin Q., Cheng B., Pan Y., Liu H., Yang C., Chen J., Bai B. (2015) Neuroprotective effects of apelin-13 on experimental ischemic stroke through suppression of inflammation. *Peptides*, **63**, 55–62. DOI: 10.1016/j.peptides.2014.09.016

Поступила в редакцию: 07.10.2025.  
После доработки: 18.10.2025.  
Принята к печати: 20.10.2025.

THE PRECONDITIONING EFFECT OF A STRUCTURAL ANALOGUE OF APELIN-12  
IN A RAT MODEL OF ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

O.M. Veselova, L.I. Serebryakova, I.M. Studneva, A.A. Azmuko, A.V. Avdeev, M.V. Sidorova, O.I. Pisarenko\*

Academician E.I. Chazov National Medical Research Center of Cardiology,  
15a Academician Chazov str., Moscow, 121552 Russia; \*e-mail: olpi@live.ru

The use of pharmacological agents to trigger preconditioning mechanisms may improve the prevention and treatment of coronary heart disease. The aim of this study was to evaluate the ability of a structural analog of apelin-12 ((N<sup>ω</sup>Me)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe-OH, metilin) to reproduce the effect of ischemic preconditioning (IP) of rat hearts *in vivo*. Control rats were exposed to 40-min occlusion of the left descending coronary artery (LDCA) followed by 60-min restoration of coronary blood flow (reperfusion). IP was modeled by three cycles of 5-min occlusion/5-min reperfusion of the LDCA before prolonged regional myocardial ischemia and reperfusion. Metilin (5 mg/kg) was administered to rats intravenously by bolus injection 30 min before LDCA occlusion. IP or metilin had a significant impact on the studied parameters. The size of necrotic damage to the left ventricle, expressed as the percentage ratio of myocardial infarction/myocardial area at risk (MI/AAR, %), at the end of reperfusion was 26.9±2.0% and 29.3±2.6%, respectively, compared with 43.8±1.2% in the control ( $p < 0.01$ ). The activity of creatine kinase-MB (CK-MB) in blood plasma decreased to 1026.1±93.9 IU/ml and 1195.2±142.0 IU/ml, respectively, compared with 1986.3±193.7 IU/ml in the control ( $p < 0.02$ ). Administration of metilin, as well as IP, increased the reduced content of ATP, total adenine nucleotide pool ( $\Sigma$ AN) and phosphocreatine (PCr) in the AAR at the end of reperfusion compared to the control ( $p < 0.05$ – $0.01$ ). In the metilin group, the content of total creatine ( $\Sigma$ Cr) in AAR was higher than in the control ( $p < 0.05$ ). Intravenous administration of 5 mg/kg 5-hydroxydecanoate (5HD), an inhibitor of mitochondrial ATP-dependent K<sup>+</sup> channels (mitoK<sub>ATP</sub>), abolished the preconditioning effect of metilin, and increased the MI/AAR, %, and plasma CK-MB activity to values that insignificantly differed from the control (39.4±2.8% and 2258.2±179.1 IU/ml, respectively). Simultaneously, 5HD significantly reduced the ATP and  $\Sigma$ AN levels in AAR compared to those in the metilin group and the ATP,  $\Sigma$ AN, and PCr levels compared to the IP group. The results indicate that pharmacological preconditioning by metilin reduced cardiac ischemia/reperfusion injury via the involvement of mitoK<sub>ATP</sub> in the mechanism of metilin action.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

**Keywords:** metilin; rat heart; preconditioning; myocardial infarction; creatine kinase-MB; energy state of the myocardial area at risk

**Funding.** This study was supported by the Russian Ministry of Public Health (State Assignment no. 125022803024-3).

Received: 07.10.2025; revised: 18.10.2025; accepted: 20.10.2025.