

УДК 612.173: 612.174

*Бесчасний С. П.*

## ВПЛИВ РЕКОМБІНАНТНОГО ІНТЕРФЕРОНУ АЛЬФА НА ЕЛЕКТРИЧНУ АКТИВНІСТЬ І МЕТАБОЛІЗМ ІЗОЛЬОВАНОГО СЕРЦЯ

Херсонський державний університет

beschasniu@ksu.ks.ua

Проведено дослідження впливу рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2b$  на ізольоване серце миші. Ретроградна перфузія серця розчином Кребса-Хензеляйта із розчиненим інтерфероном- $\alpha 2b$  у кількості 2000 МО спричиняла зниження вольтажу зубця R в момент проведення перфузії та ішемії (проте під час реперфузії спричиняє його підвищення), збільшення тривалості інтервалу R-R. Разом з тим, перфузія серця розчином інтерферону- $\alpha 2b$  супроводжувалася зниженням об'ємної швидкості коронарного потоку.

Пропускання інтерферону- $\alpha 2b$  через серце спричиняє зниження споживання міокардом глюкози на тлі депонування позаклітинного  $Ca^{2+}$  та посилення виходу ферменту АсАт, зниження екскреції креатиніну, що свідчить про пригнічення активності креатинінфосфокінази. Оскільки переважна кількість креатинінкінази локалізована в мембранах мітохондрій, отримані результати свідчать про інгібуючий вплив інтерферону на активність процесів транспорту макроергічних сполук у міокарді.

**Ключові слова:** інтерферон- $\alpha 2b$ ; ізольоване серце; аспаратамінотрансфераза; креатинін.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана в рамках науково-дослідної теми кафедри біології людини та імунології Херсонського державного університету «Дія гетероциклічних сполук на систему імунітету та морфологію внутрішніх органів лабораторних мишей», № держ. реєстрації 0111U007783.

**Вступ.** Інтерферони (ІФН) являють собою родину цитокінів з плейотропною дією, що включає в себе інгібування вірусної реплікації, клітинної проліферації і активацію імунної системи. Рецептори до ІФНів експресуються на всіх клітинах організму.

Ці властивості обумовлюють застосування інтерферонів під час розвитку інфекції, канцерогенезі [14]. Відомо, що ІФН діє на клітини ендотелію, спричиняючи антиангіогенний ефект [6; 9]. Разом з тим, залишаються не до кінця розкритими ефекти впливу інтерферону на серцевий м'яз. Відомо, що у осіб, які тривалий час вживають ІФН, фіксують підвищення вольтажу QRS-комплексу [5]. Зустрічаються повідомлення про функціональні реакції серця під час застосування інтерферонотерапії, зокрема згадуються явища аритмії, дилатаційної кардіоміопатії, миготливої екстрасистолії, симптоми ішемічної хвороби серця, гіпер- та гіпотонія [8]. За тривалого уведення лабораторним мишам інтерферону- $\alpha$ , відбуваються ультраструктурні зміни капілярів серця: збільшується товщина ендотеліальних клітин з відповідним зменшенням їх просвіту [12]. Після 2–3 уведень високих доз інтерферону- $\alpha$  щуром, спостерігається подовження часу реполяризації шлуночків, зниження вольтажу Р-зубця на електрокардіограмі [13]. Деякі автори допускають здатність молекул інтерферону активувати  $\beta$ -адренорецептори серця, що обумовлює побічні ефекти зі сторони серцево-судинної системи, які зникають після припинення інтерферонотерапії [7]. Таким чином, залишається нерозкритим безпосередній вплив інтерферонів на серце, не зрозумілі механізми формування вищезгаданих побічних ефектів зі сторони серцево-судинної системи.

**Мета роботи** – дослідження безпосереднього впливу препарату рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2b$  на ізольоване серце миші в умовах ішемії-реперфузії.

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження проведені на серцях нелінійних лабораторних мишей ( $n=20$ ) віком 3–4 міс., масою 20–25 г, з до-

триманням нормативів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 р., «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013). Тварини утримувалися на стандартному раціоні.

Після проведення цервікальної дислокації ізолювали серце, яке поміщали у охолоджений (+4 °С) розчин Кребса-Хензелейта (рН 7,3–7,4) з гепарином. Відразу проводили канюлювання аорти і починали ретроградну перфузію коронарних судин в умовах постійного тиску  $102 \pm 2$  мм рт. ст. (55 мм. водн. ст.) теплим (+37 °С) перфузійним розчином Кребса-Хензелейта (склад розчину у ммоль/л: NaCl – 118; KCl – 4,7; MgSO<sub>4</sub> – 1,2; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; глюкози – 5,5; NaHCO<sub>3</sub> – 25). Перфузійний розчин постійно насичували карбогеном (95% O<sub>2</sub> і 5% CO<sub>2</sub>).

Електричну активність серця досліджували у природному стані, штучна стимуляція не проводилася. Під час перфузії проводили реєстрацію електрограми серця електрокардіографом Мідас ЕК-1Т у II відведенні. Визначення об'ємної швидкості коронарного потоку проводили шляхом вимірювання об'єму витікаючого з коронарних судин розчину (мл/хв). В отриманому перфузаті визначали вміст кальцію, креатиніну, глюкози та аспартатамінотрансферази (АсАт) за допомогою набору тест-систем НВП «Філісіт-діагностика» (Україна).

Першу (контрольну) групу складали зразки ізолюваного серця (n=10), через які пропускали розчин Кребса-Хензелейта. До другої групи відносили серця (n=10), через які пропускали розчин Кребса-

Хензелейта в якому розчиняли ліофілізований препарат рекомбінантного інтерферону-α2b («ПАТ Біофарма», Україна) до концентрації 2000 МО/л.

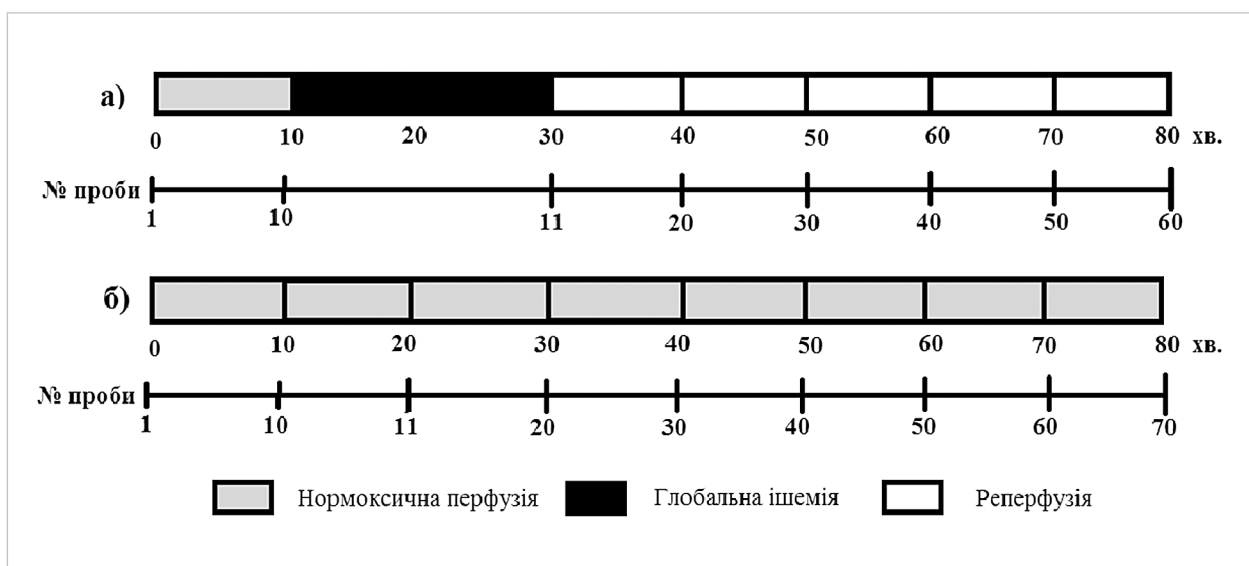
Для всіх груп, на початку перфузії, ізолюване серце не менше 10 хвилин відмивалося від залишків крові до встановлення постійних показників частоти скорочень. Ішемію ізолюваного серця, зануреного у термостатовану ємність з перфузійним розчином, моделювали шляхом повного припинення перфузії протягом 20 хв. Тривалість періодів перфузії та реперфузії складала по 20 хвилин відповідно (рис. 1).

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

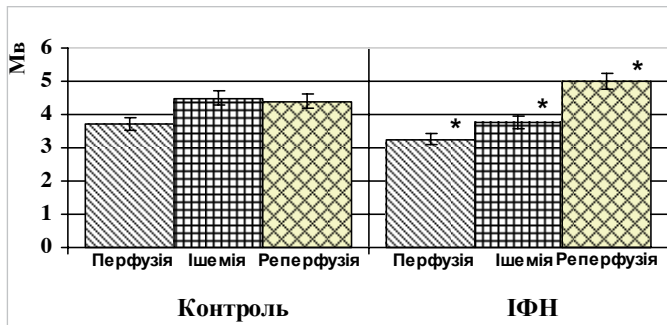
**Результати дослідження та їх обговорення.**

Відомо, що інтерферон-α2b має здатність впливати на процеси росту і диференціації клітин, обумовлює зміни метаболічних та синтетичних процесів, накопичення й активацію мастоцитів у тканинах [1, 3].

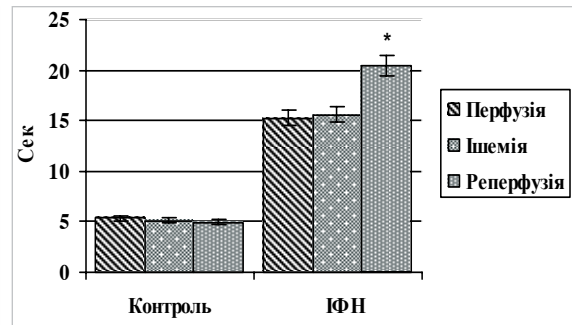
Реєстрація біострумів серця, що є одним із засобів визначення його діяльності, надає інформацію про збудження серцевого м'яза, напрямок і швидкість поширення збудження по міокарду та пов'язаний з цим процесом ритм серцевих скорочень. Проведене порівняння середніх показників значень сили зубця R електрокардіограми показало, що вплив на ізолюване серце розчину інтерферону спричиняє достовірне зниження вольтажу в момент проведення перфузії (на 0,48 мВ) та ішемії (на 0,75 мВ), проте під час реперфузії спричи-



**Рис 1.** Схема проведення перфузії ізолюваного серця миші.  
*Примітка:* а) перфузія з етапом глобальної ішемії-реперфузії; б) перфузія без етапу глобальної ішемії.



**Рис. 2.** Показники сили зубця R електрокардіограми.  
*Примітка:* \* – достовірна різниця у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).



**Рис. 3.** Показники тривалості інтервалів R-R'.  
*Примітка:* \* – достовірна різниця у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

няє його підвищення (на 0,6 мВ) у порівнянні з контролем (перфузія розчином Кребса-Хензелейта) (рис. 2).

Порівняння середніх показників тривалості інтервалів R-R' у контрольній групі показало відсутність значимих відмінностей в період перфузії, ішемії та реперфузії (рис. 3).

Показники, отримані під час перфузії розчином з інтерфероном, були істотно вищими за контроль: під час перфузії тривалість інтервалу R-R' збільшилася на 15,3 с, під час ішемії – на 10,5 с, під час реперфузії – на 15,4 с. Разом зі змінами електрокардіограми, зафіксовані відповідні зміни коронарного потоку у експериментальних групах.

У випадку проведення перфузії ізолюваного серця розчином Кребса-Хензелейта з додаванням рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2b$  спостерігалось достовірне ( $p \leq 0,05$ ) зниження показників об'ємної швидкості коронарного потоку (рис. 4).

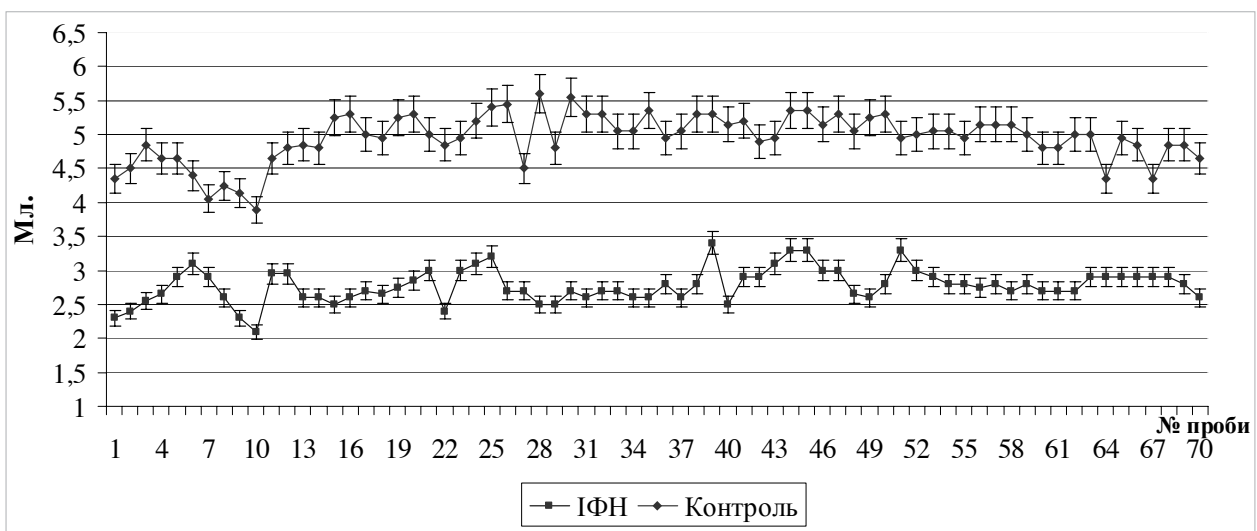
Зокрема, до початку ішемії-реперфузії відбувалося зниження показника об'ємної швидкості на  $58 \pm 2,9\%$  (1–10 хв.), після ішемії за умови реперфузії – на  $46 \pm 2,3\%$  (30–40 хв.), на  $47 \pm 2,4\%$  (41–50 хв.),  $43 \pm 2,2\%$  (51–60 хв. та 61–70 хв.), та  $41 \pm 2\%$  (71–

80 хв.). При цьому, у обох випадках спостерігалось компенсаторне підвищення показників коронарного потоку відразу після ішемії, на початку реперфузії (11 проба).

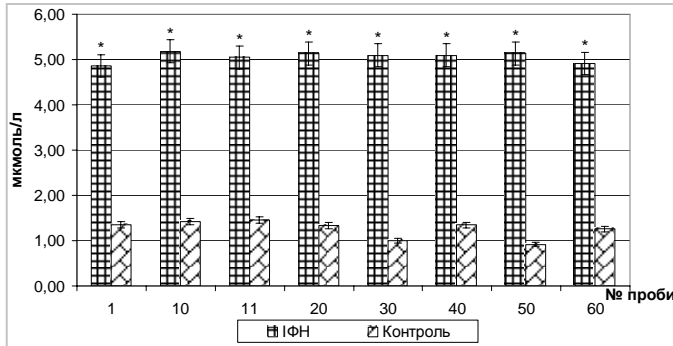
Цікавими виявилися показники вмісту глюкози у перфузійному розчині, який відтікав від серця. У порівнянні з контролем, під час перфузії серця розчином Кребса-Хензелейта з додаванням рекомбінантного ІФН- $\alpha 2b$ , відбувалося зниження показників засвоєння глюкози серцем. До початку ішемії цей показник зменшився на  $3,6 \pm 0,2$  мкмоль/л, після ішемії – на  $3,7 \pm 0,2$  мкмоль/л, а наприкінці реперфузії досяг  $4,0 \pm 0,2$  мкмоль/л (рис. 5).

Явище зниження метаболізму глюкози у серці під впливом інтерферону узгоджується з показниками зниження об'ємної швидкості коронарного кровотоку.

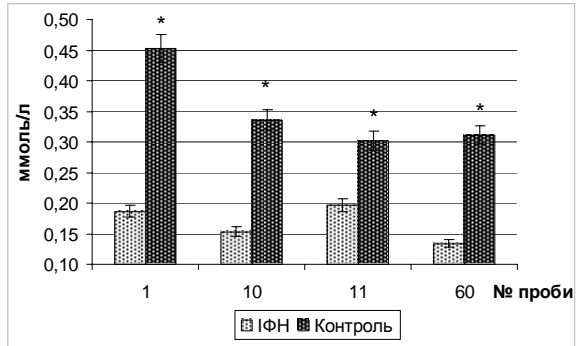
Відомо, що робота скорочувального апарату м'язового волокна приводиться в активний стан завдяки йонам  $Ca^{2+}$ , при цьому саме ці йони обумовлюють вхідний струм під час генерації потенціалу дії [2]. Оскільки частина йонів  $Ca^{2+}$ , які ініціюють скорочення міофібрил, потрапляє до клітини з міжклітинної рідини по «повільним»  $Na^+Ca^{2+}$  кана-



**Рис. 4.** Об'ємна швидкість коронарного потоку ізолюваного серця миші за умови ішемії-реперфузії.



**Рис. 5.** Вміст глюкози у пробах перфузійного розчину, який відтікав від серця.  
*Примітка:* \* – достовірна різниця у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).



**Рис. 6.** Вміст  $Ca^{2+}$  у пробах перфузійного розчину, який відтікав від серця.  
*Примітка:* \* – достовірна різниця у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

лам мембрани, було досліджено активність поглинання серцем іонів  $Ca^{2+}$  з перфузійного розчину за умови впливу рекомбінантного ІФН- $\alpha 2b$  під час ішемії-реперфузії.

Під час перфузії серця розчином Кребса-Хензелейта з додаванням рекомбінантного ІФН- $\alpha 2b$  спостерігалось посилення процесів депонування міокардом позаклітинного кальцію. На **рис. 6** зображено порівняння вмісту кальцію у пробах перфузійного розчину.

Таким чином, на початку перфузії ізольованого серця розчином Кребса-Хензелейта з додаванням рекомбінантного ІФН- $\alpha 2b$ , вміст  $Ca^{2+}$  у першій пробі був знижений у 2,4 рази в порівнянні з контролем. До початку ішемії, на 10-й хвилині перфузії, цей показник також був знижений у 2,3 рази. На початку реперфузії кількість поглинутого  $Ca^{2+}$  була більшою у 1,5 рази, наприкінці – у 2,4 рази. Отже, безсумнівним є те, що перфузія ізольованого серця розчином, який містить ІФН- $\alpha 2b$ , обумовлює посилення поглинання іонів  $Ca^{2+}$  міокардом як до ішемії, так і під час реперфузії.

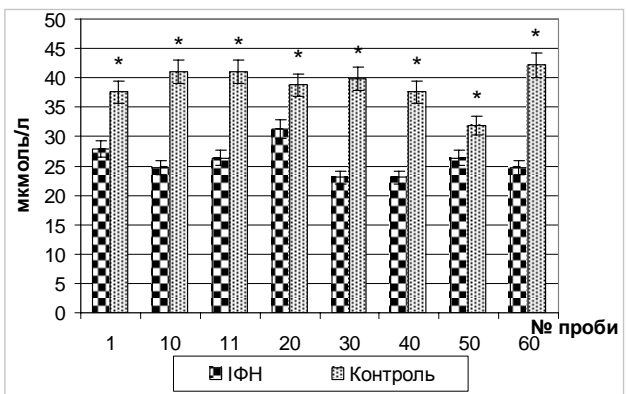
Відомо, що у біоенергетиці м'язів виділяють 3 механізми енергозабезпечення: аеробний, гліколітичний та креатинфосфокіназний (алактатний) [11]. У нашому випадку, під час дослідження показників вмісту креатиніну, інтерферон спричинив зниження його екскреції у перфузійний розчин. На початку перфузії – в першій пробі показник був знижений у 1,3 рази у порівнянні з контролем, у 10-й – в 1,7 разів. На початку реперфузії показник був знижений у 1,6 рази (11 проба), на 10-й хвилині реперфузії цей показник був знижений у 1,2 рази, на 20-й – у 1,7 разів, 30-й – у 1,6 рази, 40-й – у 1,2 рази, наприкінці реперфузії – у 1,7 рази (в порівнянні з контролем) (**рис. 7**).

Також проводили дослідження показників активності аспартатамінотрансферази (АсАт). Відомо, що АсАт відіграє важливу роль у синхронізації енергетичного та азотистого обміну, який здійснюється

на рівні мітохондрій. Функціонування ферменту пов'язане із механізмами обміну азотистими та безазотистими сполуками між матриксом мітохондрій та цитоплазмою [10].

Загалом, рівень активності АсАт у перфузійному розчині, який відтікав від серця під час перфузії розчином Кребса з ІФН, був достовірно ( $p \leq 0,05$ ) вищим за контроль. Цікавим є те, що у період реперфузії відбувається зниження показників активності АсАт у контролі через 10 хв. після ішемії, а в умовах реперфузії серця інтерфероном, зниження показників спостерігалось через 20 хв. Тільки наприкінці реперфузії розчином Кребса з ІФН відбувалося зниження активності АсАт, тоді як у контрольній групі цього не спостерігалось (**рис. 8**).

Аналіз результатів засвідчив, що додавання до перфузійного розчину рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2b$  обумовлює метаболічні зміни в серці. З огляду на те, що інтерферон є цитокином імунної системи, біологічна активність якого реалізується в протівірусній, протипухлинній та імуностимулювальній дії, він володіє плейотропним впливом. Його дія на серцевий м'яз обумовлює метаболічні зміни, що проявляється зниженням поглинання кардіоміоцитами глюкози, підвищенням поглинання



**Рис. 7.** Вміст креатиніну в пробах перфузійного розчину, який відтікав від серця.

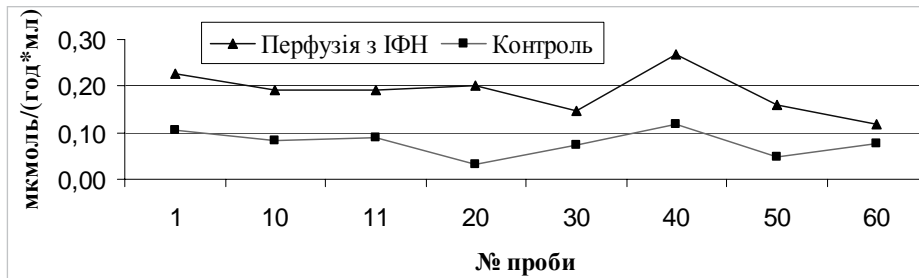


Рис. 8. Активність АсАт в пробах перфузійного розчину, який відтікав від серця.

Ca<sup>2+</sup>, зниженням екскреції креатиніну та підвищенням виходу АсАт на тлі зниженої об'ємної швидкості.

У нашому випадку, визначення активності алактатного шляху є важливим показником активності креатинінфосфокінази і стану міокарду. Після проведення перфузії ізольованого серця було встановлено, що пропускання інтерферону обумовлювало зниження екскреції креатиніну з міокарду, що свідчить про пригнічення активності креатинінфосфокінази. Відомо, що підвищення активності цього ферменту є маркером пошкодження кардіоміоцитів. Концентрація креатинфосфату у м'язах в 3–4 рази більше у порівнянні з вмістом АТФ. Зниження екскреції креатину вказує на зниження запасів креатинінфосфату. За показником вивільнення креатиніну можна судити про вміст креатинінфосфату у м'язах. Відомо, що синтез креатинфосфату у міоцитах відбувається під час відпочинку шляхом взаємодії креатину із надлишком АТФ. У зв'язку з тим, що переважна кількість креатинінкінази локалізована в мембранах мітохондрій, отримані результати вказують на інгібуючий вплив ІФН-у на активність процесів транспорту макроергічних сполук у міокарді.

Підтвердженням вищезазначеного явища є встановлене зниження споживання глюкози міокардом під впливом ІФН-у. Загальноприйнятим є те, що кальцій є необхідним для активації мітохондріальних ферментів та стимуляції енергоутворення. У нашому дослідженні спостерігалось депонування Ca<sup>2+</sup> кардіоміоцитами, що було найбільш виражене після ішемії – на початку реперфузії. Разом з тим, ми вважаємо, що підвищення вивільнення АсАт також пов'язане із накопиченням Ca<sup>2+</sup> в кардіоміоцитах. Отже, ці показники взаємопов'язані, оскільки відомо, що переваження мітохондрій кальцієм

призводить до змін рівня мітохондріальні АсАт (за участі Ca<sup>2+</sup>-чутливих протеаз) та запуску мітоптозу. Вищезазначені явища супроводжувалися змінами електричної активності серця, спричиняючи достовірне зниження вольтажу в момент проведення перфузії інтерфероном, але під час реперфузії спостерігалось його підвищення. Тривалість інтервалів R-R' під час перфузії інтерфероном була істотно вищою за контроль, що проявлялось відповідним зниженням коронарного потоку.

#### Висновки.

1. Розчин інтерферону-α2b спричиняє зміни електрограми ізольованого серця миші – зниження вольтажу зубця R в момент проведення перфузії та ішемії (проте під час реперфузії спричиняє його підвищення), збільшення тривалості інтервалу R-R' у всіх випадках. Зміни показників електрограми ізольованого серця під впливом інтерферону-α2b узгоджуються зі зниженням показників об'ємної швидкості коронарного потоку, особливо у період реперфузії.
2. Інтерферон-α2b обумовлює метаболічні зміни у ізольованому серці, що проявляється зниженням споживання глюкози на тлі депонування позаклітинного Ca<sup>2+</sup> міокардом та посилення виходу ферменту АсАт у перфузійний розчин. Разом з тим, пропускання через серце розчину інтерферону обумовлювало зниження екскреції креатиніну з міокарду, що свідчить про пригнічення активності креатинінфосфокінази. У зв'язку із тим, що переважна кількість креатинінкінази локалізована в мембранах мітохондрій, отримані результати вказують на інгібуючий вплив рекомбінантного інтерферону-α2b на активність процесів транспорту макроергічних сполук у міокарді.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у з'ясуванні метаболічного статусу мітохондрій кардіоміоцитів під впливом різних концентрацій інтерферону-α2b та визначення можливої участі молекул інтерферону у активації β-адренорецепторів серця.

#### Література

1. Бесчасний С. П. Реакція мастоцитів на перфузію серця розчином інтерферону / С. П. Бесчасний, М. М. Найдьонов, О. М. Гасюк // Природничий альманах. Біологічні науки: зб. наук. праць. – 2015. – № 22. – С. 4–11.
2. Скок В. И. Нервно-мышечная физиология / В. И. Скок, М. Ф. Шуба. – К. : Вища школа, 1986. – 224 с.
3. Спивак Н. Я. Интерферон и система мононуклеарных фагоцитов / Н. Я. Спивак, Л. Н. Лазаренко, О. Н. Михайленко. – К. : Фитосоциоцентр, 2002. – 163 с.
4. Саакян И. Р. Аспаратаминотрансфераза – эффективный регулятор сукцинат-зависимого поглощения Ca<sup>2+</sup> в митохондриях сердца и печени экспериментальных животных / И. Р. Саакян, Р. Г. Камалян, К. А. Гевондян // Доклады Академии Наук Армении. – 2004. – Т. 104 (3). – С. 234.
5. Hiramatsu S. Influence of interferon therapy on signal-averaged and ambulatory electrocardiograms in patients with chronic active hepatitis / S. Hiramatsu, T. Maruyama, H. Ito [et al.] // Int. Heart J. – 2005. – № 46 (6). – P. 1033–1040.



6. Indraccolo S. Identification of genes selectively regulated by IFNs in endothelial cells / S. Indraccolo, U. Pfeffer, S. Minuzzo [et al.] // *J. Immunol.* - 2007. - № 178. - P. 1122–1135.
7. Ishikawa T. Inhibitory effects of interferon-gamma on the heterologous desensitization of beta-adrenoceptors by transforming growth factor-beta 1 in tracheal smooth muscle / T. Ishikawa, H. Kume, M. Kondo [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* - 2003. - Vol. 33 (6). - P. 808–815.
8. Kaveti P. Cardiomyopathy due to pegylated interferon therapy for hepatitis C / P. Kaveti, E. Isom, K. Schrapp, M. Crawford // *International J. Intern. Med.* - 2014. - Vol. 3 (2). - P. 35–37.
9. Marschall Z. Effects of interferon alpha on vascular endothelial growth factor gene transcription and tumor angiogenesis / Z. Marschall, A. Scholz, T. Cramer [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* - 2003. - Vol. 95 (6). - P. 437–448.
10. Passarella S. The role of mitochondrial transport in energy metabolism / S. Passarella, A. Atlante, D. Valenti, L. de Bari // *Mitochondrion.* - 2003. - Vol. 2. - P. 319–343.
11. Peter J. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits / J. Peter, J. Barnard, V. Edgerton [et al.] // *Biochemistry.* - 1972. - Vol. 11 (14). - P. 2627–2633.
12. Salman H. The effect of interferon on mouse myocardial capillaries: an ultrastructural study / H. Salman, M. Bergman, H. Bessler [et al.] // *Cancer.* - 1999. - Vol. 85 (6). - P. 1375–1379.
13. Zbinden G. Effects of recombinant human alpha-interferon in a rodent cardiotoxicity model / G. Zbinden // *Toxicology Letters.* - 1990. - Vol. 50. - P. 25–35.
14. Zheng L. Mechanisms for interferon- $\alpha$ -induced depression and neural stem cell dysfunction / L. Zheng, S. Hitoshi, N. Kaneko [et al.] // *Stem Cell Reports.* - 2014. - Vol. 3. - P. 73–84.

### References

1. Beschasniy SP, Nayd'onov MM, Gasyuk OM. Reaktsiya mastotsitiv na perfuziyu sertsya rozchinom interferonu. Prirodnichiy al'manakh. *Biologichni nauki: zb. nauk. prats'.* 2015;22:4–11.
2. Skok VI, Shuba MF. *Nervno-myshechnaya fiziologiya.* K.: Vishcha shkola; 1986. 224 s.
3. Spivak NYa, Lazarenko LN, Mikhaylenko ON. *Interferon i sistema mononuklearnikh fagotsitov.* K.: Fitosotsiotsentr; 2002. 163 s.
4. Saakyan IR, Kamalyan RG, Gevondyan KA. Aspartataminotransferaza– effektivnyy regulyator suksinat-zavisimogo pogloshcheniya Sa<sup>2+</sup> v mitokhondriyakh serdtsa i pecheni eksperimental'nykh zhivotnykh. *Doklady Akademii Nauk Armenii.* 2004;104(3):234.
5. Hiramatsu S, Maruyama T, Ito H, Shimoda S, Kaji Y, Harada M. Influence of interferon therapy on signal-averaged and ambulatory electrocardiograms in patients with chronic active hepatitis. *Int Heart J.* 2005;46(6):1033–40.
6. Indraccolo S, Pfeffer U, Minuzzo S, Esposito G, Roni V, Mandruzzato S, Ferrari N, et al. Identification of genes selectively regulated by IFNs in endothelial cells. *J Immunol.* 2007;178:1122–35.
7. Ishikawa T, Kume H, Kondo M, Ito Y, Yamaki K, Shimokata K. Inhibitory effects of interferon-gamma on the heterologous desensitization of beta-adrenoceptors by transforming growth factor-beta 1 in tracheal smooth muscle. *Clin Exp Allergy.* 2003;33(6):808 – 15.
8. Kaveti P, Isom E, Schrapp K, Crawford M. Cardiomyopathy due to pegylated interferon therapy for hepatitis C. *International J Intern Med.* 2014;3(2):35–7.
9. Marschall Z, Scholz A, Cramer T, Schäfer G, Wiedenmann B, Höcker M, Rosewicz S, et al. Effects of interferon alpha on vascular endothelial growth factor gene transcription and tumor angiogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(6):437–48.
10. Passarella S, Atlante A, Valenti D, de Bari L. The role of mitochondrial transport in energy metabolism. *Mitochondrion.* 2003;2:319–43.
11. Peter J, Barnard J, Edgerton V, Gillespie C, Stempel K. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry.* 1972;11(14):2627–33.
12. Salman H, Bergman M, Bessler H, Alexandrova S, Djaldetti M. The effect of interferon on mouse myocardial capillaries: an ultrastructural study. *Cancer.* 1999;85(6):1375–9.
13. Zbinden G. Effects of recombinant human alpha-interferon in a rodent cardiotoxicity model. *Toxicology Letters.* 1990;50:25–35.
14. Zheng L, Hitoshi S, Kaneko N, Takao K, Miyakawa T. Mechanisms for interferon- $\alpha$ -induced depression and neural stem cell dysfunction. *Stem Cell Reports.* 2014;3:73–84.

УДК 612.173: 612.174

### ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И МЕТАБОЛИЗМ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА

*Бесчасный С. П.*

**Резюме.** Проведено исследование влияния рекомбинантного интерферона- $\alpha$ 2b на изолированное сердце мыши. Ретроградная перфузия сердца раствором Кребса-Хензеляйта с растворенным интерфе-

роном- $\alpha 2b$  (2000 ME) вызвала снижение вольтажа зубца R в момент проведения перфузии и ишемии (но при реперфузии вызвала его повышение), увеличение продолжительности интервала R-R. Вместе с тем, перфузия сердца раствором интерферона- $\alpha 2b$  сопровождалась снижением объемной скорости коронарного потока. Пропускание интерферона- $\alpha 2b$  через сердце приводит к снижению потребления миокардом глюкозы на фоне депонирования внеклеточного  $Ca^{2+}$  и усиление выхода фермента АсАт, снижение экскреции креатинина, что свидетельствует об угнетении активности КФК. Поскольку подавляющее количество КФК локализовано в мембранах митохондрий, полученные результаты свидетельствуют об ингибирующем влиянии интерферона на активность процессов транспорта макроэргических соединений в миокарде.

**Ключевые слова:** интерферон- $\alpha 2b$ ; изолированное сердце; аспаратаминотрансфераза; креатинин.

UDC 612.173: 612.174

## INFLUENCE OF RECOMBINANT INTERFERON ALFA ON ELECTRIC ACTIVITY AND ISOLATED HEART METABOLISM

*Beschasnyi S. P.*

**Abstract.** It was studied an effect of recombinant interferon- $\alpha 2b$  on the isolated mouse heart. Retrograde perfusion of the heart with Krebs-Henseleit solution with dissolved interferon- $\alpha 2b$  (2000 IU) caused a decrease in the voltage of the R wave at the time of perfusion and ischemia (but when reperfusion leads it to increase), an increase the duration of the R-R interval. At the same time, perfusion of the heart with a solution of interferon- $\alpha 2b$  was accompanied by a decrease in the volume rate of the coronary flow. Passing of interferon- $\alpha 2b$  through the heart leads to a decrease in myocardial glucose consumption against the background of deposition of extracellular  $Ca^{2+}$  and an increase in the yield of the enzyme AcAt, a decrease in creatinine excretion, which indicates inhibition of CPK activity. Since the overwhelming amount of CK is localized in the mitochondrial membranes, the results which were obtained indicate an inhibitory effect of interferon on the activity of transport processes of macroergic compounds in the myocardium.

*Materials and methods.* Examinations were conducted on the hearts of non-linear laboratory mice ( $n=20$ ) aged 3–4 months, with body weight 20–25 g. After conducting cervical dislocation isolated heart, which was placed in chilled ( $+4^{\circ}C$ ) solution of Krebs-Henseleit (pH 7,3–7,4) with heparin. Immediately cannulated of the aorta, and it was begun a retrograde perfusion of the coronary blood vessels under conditions of constant pressure,  $102 \pm 2$  mm Hg. article warm ( $+37^{\circ}C$ ) perfusion with a solution of Krebs-Henseleit (composition of solution in mmol/l: NaCl – 118; KCl – 4.7; and  $MgSO_4$  – 1.2;  $KH_2PO_4$  – 1.2;  $CaCl_2$  – 2.5); a glucose of 5.5;  $NaHCO_3$  – 25). The perfusion solution was continuously saturated with carbogen (95%  $O_2$  and 5%  $CO_2$ ).

Electrical activity investigated heart in natural state and artificial stimulation was not conducted. Heart electrogram was registered during perfusion. Determination of the volume of velocity was performed of the coronary flow by measuring of the volume of flow from the coronary vessels of solution (ml/min). In the resulting perfusion, solution determined the content of calcium, creatinine, glucose, and aspartate aminotransferase (AST).

The first (control) group consisted of samples isolated heart ( $n=10$ ), through which passed a solution of Krebs-Henseleit. The second group included ( $n=10$ ), through which passed a solution of Krebs-Henseleit which was dissolved lyophilized preparation of recombinant interferon- $\alpha 2b$  at a concentration of 2000 IU/L.

Ischemia-reperfusion of the isolated heart, which was immersed in capacity with perfusion solution, was modelled by a complete cessation of perfusion for 20 minutes. The duration of perfusion and reperfusion was 20 minutes.

*Results and discussion.* A solution of interferon- $\alpha 2b$  determines changes of electrogram of isolated hearts of mice, the decrease in voltage of R-wave at the time of the perfusion and ischemia (however, during reperfusion it causes increase), the increase in the duration of R-R interval in all cases. Changes in the indices of electrogram isolated heart under the influence of interferon- $\alpha 2b$  are consistent with the decline in flow rate of the coronary flow, especially during reperfusion. Interferon- $\alpha 2b$  causes metabolic changes in the isolated heart, which is manifested by reduced consumption of glucose on the background deposition of extracellular  $Ca^{2+}$  myocardium and increased release of the enzyme AST in the perfusion solution. However, passing through the heart of the solution of interferon caused decline of creatinine excretion from the myocardium, indicating the inhibition of the activity creatine kinase. Due to the fact that an overwhelming number of creatine kinase localized in the mitochondrial membranes, the obtained results indicate the inhibitory effect of IFN on the activity transport processes of macroergic compounds in the myocardium.

**Keywords:** interferon- $\alpha 2b$ ; isolated heart; aspartate aminotransferase; creatinine.

Стаття надійшла 03.05.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування