

УДК 612.179:616.12-008:577.152.6  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-6-10>

## Участие протеинкиназы С и Р13-киназы в механизме кардиопротекторного эффекта дистантного посткондиционирования

Мухомедзянов А.В., Нарыжная Н.В., Маслов Л.Н.

Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии,  
Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Острый инфаркт миокарда (ОИМ) с подъемом сегмента ST отличается высокой частотой осложнений. Смертность от ОИМ составляет около 5% и в последние годы не снижается. Реваскуляризация обеспечивает восстановление коронарного кровотока, но также способствует возникновению реперфузионных повреждений сердца. Дистантное посткондиционирование (ДПост) является многообещающим неинвазивным методом, способным эффективно и безопасно уменьшить размер инфаркта миокарда.

**Цель** – изучение участия протеинкиназы С и Р13-киназы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ДПост.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на 48 самцах крыс линии Вистар. Осуществляли коронароокклюзию (45 мин) и реперфузию (2 ч). Оценивали размер зоны некроза и зоны риска. Дистантное посткондиционирование моделировали путем наложения жгутов на задние конечности в области тазобедренного сустава сразу после восстановления коронарного кровотока. Все ингибиторы вводили внутривенно за 10 мин до реперфузии.

**Результаты.** В контрольной группе отношение зона инфаркта/зона риска (ЗИ/ЗР) составило 44%. Дистантное посткондиционирование уменьшало соотношение ЗИ/ЗР в 1,5 раза. Предварительное введение ингибитора протеинкиназы С хелеритрина или ингибитора Р13-киназы вортманнина устраняло кардиопротекторный эффект ДПост.

**Заключение.** Механизм инфаркт-лимитирующего эффекта ДПост реализуется через активацию протеинкиназы С, Р13-киназы.

**Ключевые слова:** сердце, ишемия, реперфузия, дистантное посткондиционирование.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Статья подготовлена при поддержке гранта РФФИ № 21-515-53003. Раздел, посвященный Р13, оформлен в рамках государственных назначений АААА-А15-115120910024-0. Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования «Медицинская геномика».

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 207 от 23.02.2020).

**Для цитирования:** Мухомедзянов А.В., Нарыжная Н.В., Маслов Л.Н. Участие протеинкиназы С и Р13-киназы в механизме кардиопротекторного эффекта дистантного посткондиционирования. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (4): 6–10. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-6-10>.

# The role of protein kinase C and PI3-kinase in the mechanism of the cardioprotective effect of remote ischemic postconditioning

Mukhomedzyanov A.V., Naryzhnaya N.V., Maslov L.N.

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

## ABSTRACT

**Background.** Acute myocardial infarction (AMI) with ST segment elevation is associated with high incidence of complications. Mortality from AMI is about 5%, which has not decreased in recent years. Revascularization provides recovery of coronary blood flow, but also contributes to the occurrence of reperfusion injury to the heart. Remote ischemic postconditioning (RIPostC) is a promising, non-invasive method that can effectively and safely reduce the infarct size.

**The aim** of the study was to investigate the role of protein kinase C and PI3-kinase in the development of the infarct-limiting effect of remote ischemic postconditioning.

**Materials and methods.** The study was performed on Wistar rats. Coronary artery occlusion (45 min) and reperfusion (2 h) were performed. The infarct size (IS) and the size of area at risk (AAR) were assessed. RIPostC was modeled by applying tourniquets to the hind limbs in the hip joint immediately after the restoration of coronary blood flow. All inhibitors were administered intravenously 10 min before reperfusion.

**Results.** In the control group, the IS / AAR ratio was 44%. RIPostC reduced the IS / AAR ratio by about 50%. Preliminary administration of the protein kinase C inhibitor chelerythrine and the PI3-kinase inhibitor wortmannin eliminated the cardioprotective effect of RIPostC.

**Conclusion.** The mechanism of the infarct-limiting effect of RIPostC is implemented through activation of protein kinase C and PI3-kinase.

**Key words:** heart, ischemia, reperfusion, remote ischemic postconditioning.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The article was supported by the Russian Foundation for Basic Research Grant No. 21-515-53003. The section dedicated to PI3 was framed within the state assignment AAAA-A15-115120910024-0. The study was performed using the equipment of the Center for Collective Use "Medical Genomics".

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the Ethics Committee at the Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (Protocol No. of 23.02.2020).

**For citation:** Mukhomedzyanov A.V., Naryzhnaya N.V., Maslov L.N. The role of protein kinase C and PI3-kinase in the mechanism of the cardioprotective effect of remote ischemic postconditioning. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (4): 6–10. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-6-10>.

## ВВЕДЕНИЕ

Смертность от острого инфаркта миокарда (ОИМ) составляет около 5% и в последние годы не снижается [1, 2]. Проведение ревазуляризации инфаркт-связанной коронарной артерии является важным терапевтическим вмешательством при инфаркте миокарда [3]. Однако восстановление коронарного кровотока имеет и неблагоприятные последствия, проявляющиеся в виде реперфузионных повреждений сердца, влияющих на окончательный размер инфаркта и дальнейший прогноз [4]. На сегодняшний день в клинической практике отсутствуют лекарственные препараты, способные с высокой

эффективностью предупреждать реперфузионные повреждения сердца [5]. Литературные данные свидетельствуют о том, что дистантное посткондиционирование (ДПост) является многообещающим неинвазивным методом, которое может эффективно и безопасно уменьшить размер инфаркта миокарда, а также снизить риск возникновения последующих осложнений.

Феномен ДПост был открыт в 2005 г. исследовательской группой под руководством профессора J. Vinten-Johansen [6]. Дистантным посткондиционированием сердца принято называть повышение толерантности миокарда к действию длительной реперфузии после воздействия кратковременной

ишемии-реперфузии на другой орган в момент реперфузии сердца. Было обнаружено, что применение ДПост способствует уменьшению очага инфаркта в 2 раза [7]. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе данного эффекта, остаются малоизученными.

Цель исследования – изучение участия протеинкиназы С и Р13-киназы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного посткондиционирования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 48 самцах крыс линии Вистар массой 250–300 г. Все процедуры, связанные с содержанием и использованием животных, проводили с соблюдением директив Европарламента и Совета Европейского союза (2010/63/EU), регламентирующих использование животных в научных целях. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 207 от 23.02.2020). Все болезненные процедуры выполняли на наркотизированных животных.

Крыс наркотизировали  $\alpha$ -хлоралозой (60 мг/кг, внутривенно) и подключали к аппарату искусственной вентиляции легких SAR-830/P посредством введения в трахеотомическое отверстие трубки для интубации. Регистрацию частоты сердечных сокращений (ЧСС) проводили с помощью аппарата для электрофизиологических исследований МР-35. Инфаркт-лимитирующий эффект ДПост и его внутриклеточные механизмы исследовали на модели 45-минутной коронароокклюзии и 120-минутной реперфузии *in vivo* [8]. Количественную оценку повреждений миокарда определяли по соотношению зоны инфаркта к зоне риска (ЗИ/ЗР) [8]. Зонай риска принято считать ту часть миокарда, которая подверглась воздействию ишемии при воздействии коронароокклюзии. Дистантное посткондиционирование моделировали путем наложения жгутов на задние конечности в области тазобедренного сустава сразу после восстановления коронарного кровотока. Время ишемии и реперфузии для каждой фазы составляло 3 цикла по 5 мин.

В эксперименте использовали следующие фармакологические агенты: ингибитор протеинкиназы С хелеритрин – в дозе 0,3 мг/кг [9], ингибитор Р13-киназы (phosphoinositide 3-kinases) вортманнин – в дозе 25 мкг/кг [10]. Ингибиторы вводились в бедренную вену за 10 мин до реперфузии (спустя 35 мин после начала коронароокклюзии). Хелеритрин и вортманнин растворяли в 0,1 мл DMSO, полученный раствор доводили до 1 мл с помощью 20%-го  $\beta$ -гидроксипропил-циклодекстрина. Контрольной группе жи-

вотных внутривенно вводилась смесь DMSO/ $\beta$ -гидроксипропил-циклодекстрина. Крыс выводили из эксперимента спустя 2 ч после начала реперфузии путем иссечения сердца из грудной полости для последующего окрашивания и определения зоны инфаркта и зоны риска.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 13. Для оценки достоверности полученных результатов использовали критерий Манна – Уитни. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения  $M \pm SD$ . Пороговое значение уровня значимости  $p$  принято равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

После 45 мин коронароокклюзии и 120 мин реперфузии индекс ЗИ/ЗР в контрольной группе составил 44%. Применение ДПост способствовало уменьшению ЗИ/ЗР в 1,5 раза (рис.). Следовательно, ДПост повышает устойчивость сердца к реперфузионному повреждению. Дальнейшие исследования были направлены на изучение сигнального механизма кардиопротекторного эффекта ДПост. Так, при предварительном введении за 10 мин до реперфузии и, следовательно, началом ДПост ингибитора протеинкиназы С хелеритрина, наблюдалось устранение инфаркт-лимитирующего действия дистантного посткондиционирования. Подобный эффект проявлялся и при использовании ингибитора Р13-киназы вортманнина (см. рис.).

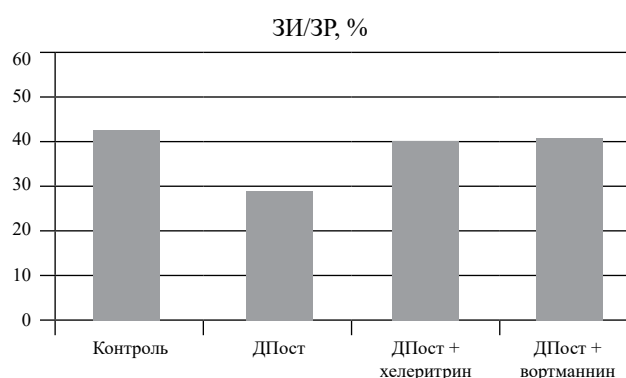


Рисунок. Соотношение зона инфаркта/зона риска:  
\* $p < 0,05$  по сравнению с контролем

В контрольной группе на протяжении всего эксперимента значимых изменений со стороны ЧСС не обнаружено. В группе, в которой спустя 45 мин коронароокклюзии моделировали дистантное посткондиционирование, также не отмечено статистически значимых изменений ЧСС (таблица). Следовательно, использование ДПост не оказывает влияние на ЧСС.

Группа	Показатели частоты сердечных сокращений в модели коронароокклюзии и реперфузии, $M \pm SD$				
	Срок наблюдения				
	Перед к/о	За 10 мин до р/п	Перед р/п	Через 30 мин после р/п	Через 2 ч после р/п
Контроль, $n = 12$	$364,4 \pm 3,5$	$362,3 \pm 3,8$	$358,7 \pm 2,9$	$353,4 \pm 4,3$	$349,7 \pm 5,2$
ДПост, $n = 12$	$366,8 \pm 3,1$	$364,8 \pm 3,6$	$363,5 \pm 3,2$	$357,6 \pm 4,1$	$351,5 \pm 4,9$

Примечание. К/о – коронароокклюзия, р/п – реперфузия.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным данным, ДПост оказывает выраженное инфаркт-лимитирующее действие [7]. Эти данные подтверждаются полученными в наших исследованиях результатами. Литературные данные свидетельствуют о том, что кардиопротекторный эффект ишемического preconditionирования связан с активацией протеинкиназы С, МЕК-киназы и Р13-киназы [7, 11, 12]. Опираясь на эти данные, мы предположили, что данные киназы могут быть задействованы и в механизме инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного preconditionирования. Действительно, согласно полученным нами результатам, в механизме кардиопротекторного эффекта ДПост участвуют протеинкиназа С и Р13-киназа, что говорит о схожести молекулярных механизмов preconditionирования и ДПост.

По некоторым данным, кардиопротекторный эффект ДПост является следствием появления в крови подопытных животных гидрофобного вещества пептидной природы с молекулярной массой 30 кДа, выделяющийся в кровь из ишемизированных конечностей [13]. Исследователи предполагают, что данный гуморальный фактор отличается от известных эндогенных пептидов, обладающих инфаркт-лимитирующим действием (опиоидные пептиды, брадикинин) и существенно превосходит их по молекулярной массе. В ряде исследований было показано, что ДПост оказывает нейропротекторный эффект [14]. Следовательно, есть основания утверждать, что отличительной особенностью гуморального фактора является способность проникать через гематоэнцефалический барьер. Поэтому можно предположить, что кардиопротекторный эффект ДПост может быть связан и с центральными механизмами. В свою очередь, на сегодняшний день нет четкого понимания о том, какие молекулярные механизмы лежат в основе эффекта ДПост.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные свидетельствуют о том, что дистантное preconditionирование способно повышать устойчивость сердца к реперфузионным повреждениям. Инфаркт-лимитирующий эффект

ДПост реализуется через активацию протеинкиназы С и Р13-киназы.

## ЛИТЕРАТУРА

- Vaidya S.R., Devarapally S.R., Arora S. Infarct related artery only versus complete revascularization in ST-segment elevation myocardial infarction and multi vessel disease: a meta-analysis. *Cardiovasc. Diagn. Ther.* 2017; 7 (1): 16–26. DOI: 10.21037/cdt.2016.08.06.
- Zhou Y., Chen S., Zhu X., Gui J., Abusaada K. Prior beta blockers use is independently associated with increased in patient mortality in patients presenting with acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 2017; 243: 81–85. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.03.004.
- McCartney P.J., Berry C. Redefining successful primary PCI. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2019; 20 (2): 133–135. DOI: 10.1093/ehjci/jej159.
- Ndrepepa G. Improving myocardial injury, infarct size, and myocardial salvage in the era of primary PCI for STEMI. *Coron. Artery Dis.* 2015; 26 (4): 341–355. DOI: 10.1097/mca.000000000000220.
- Маслов Л.Н., Барбараш О.Л. Фармакологические подходы к ограничению размера инфаркта миокарда у пациентов с острым инфарктом миокарда. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2018; 81 (3): 75–82. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-3-34-41.
- Kerendi F., Kin H., Halkos M.E., Jiang R., Zatta A.J., Zhao Z.Q., Guyton R.A., Vinten-Johansen J. Remote preconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. *Basic Res. Cardiol.* 2005; 100 (5): 404–412. DOI: 10.1007/s00395-005-0539-2.
- Heusch G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning. *Circ. Res.* 2015; 116 (4): 674–699. DOI: 10.1161/circresaha.116.305348.
- Maslov L.N., Naryzhnaya N.V., Tsibulnikov S.Yu., Kolar F., Zhang Y., Wang H., Gusakova A.M., Lishmanov Yu.B. Role of endogenous opioid peptides in the infarct size-limiting effect of adaptation to chronic continuous hypoxia. *Life Sci.* 2013; 93 (9–11): 373–379. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.07.018.
- Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Oeltgen P.R., Barzakh E.I., Krylatov A.V., Govindaswami M., Brown S.A. Activation of peripheral  $\delta_2$  opioid receptors increases cardiac tolerance to ischemia/reperfusion injury: Involvement of protein kinase C, NO-synthase,  $K_{ATP}$  channels and the autonomic nervous system. *Life Sci.* 2009; 84 (19–20): 657–663. DOI: 10.1016/j.lfs.2009.02.016.
- Fettilplace M.R., Kowal K., Ripper R., Young A., Lis K., Rubinstein I., Bonini M., Minshall R., Weinberg G. Insulin

- signaling in bupivacaine-induced cardiac toxicity: sensitization during recovery and potentiation by lipid emulsion. *Anesthesiology*. 2016; 124 (2): 428–442. DOI: 10.1097/aln.0000000000000974.
11. Cohen M.V., Downey J.M. Signalling pathways and mechanisms of protection in pre- and postconditioning: historical perspective and lessons for the future. *Br. J. Pharmacol.* 2015; 172 (8): 1913–3192. DOI: 10.1111/bph.12903.
12. Hausenloy D.J., Yellon D.M. Ischaemic conditioning and reperfusion injury. *Nat. Rev. Cardiol.* 2016; 13 (4): 193–209. DOI: 10.1038/nrcardio.2016.5.
13. Breivik L., Helgeland E., Aarnes E.K., Mrdalj J., Jonassen A.K. Remote postconditioning by humoral factors in effluent from ischemic preconditioned rat hearts is mediated via PI3K/Akt-dependent cell-survival signaling at reperfusion. *Basic Res. Cardiol.* 2011; 106 (1): 135–145. DOI: 10.1007/s00395-010-0133-0.
14. Liang D., He X.B., Wang Z., Li C., Gao B.Y., Wu J.F., Bai Y.L. Remote limb ischemic postconditioning promotes motor function recovery in a rat model of ischemic stroke via the up-regulation of endogenous tissue kallikrein. *CNS Neurosci. Ther.* 2018; 24 (6): 519–527. DOI: 10.1111/cns.12813.

## Сведения об авторах

**Мухомедзянов Александр Валерьевич**, мл. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1808-556X.

**Нарыжная Наталья Владимировна**, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2264-1928.

**Маслов Леонид Николаевич**, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6020-1598.

(✉) **Мухомедзянов Александр Валерьевич**, e-mail: sasha\_m91@mail.ru

Поступила в редакцию 20.08.2020

Подписана в печать 28.12.2020