

УДК 612.17;615

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОСНОВА КАРДИОПРОТЕКЦИИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

© 2019 г. И. В. Шемарова<sup>1,\*</sup>, В. П. Нестеров<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: irina-shemarova@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.05.2018 г.

После доработки 06.12.2018 г.

Принята к публикации 20.02.2019 г.

В обзоре рассматриваются молекулярные механизмы адаптации кардиомиоцитов к гипоксии и ишемии и анализируются сигнальные механизмы, ответственные за экспрессию метаболических генов и формирование толерантности к гипоксии и ишемии. Особое внимание уделяется анализу роли фактора транскрипции HIF-1 $\alpha$ , сукцината и АТФ-зависимых K<sup>+</sup>-каналов (K<sub>АТФ</sub>-каналов) в регуляции адаптивных ответов кардиомиоцитов при ишемии миокарда.

**Ключевые слова:** кардиопротекция, гипоксия, ишемия, preconditionирование, HIF-1 $\alpha$ , K<sub>АТФ</sub>-каналы

**DOI:** 10.1134/S0044452919030136

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является наиболее тяжелой и распространенной болезнью сердечно-сосудистой системы, от которой в нашей стране ежегодно умирает более 1,2 миллиона человек. В связи с этим разработке мер профилактики и лечения этого заболевания уделяется особое внимание [1]. К настоящему времени достигнуты большие успехи в терапии ИБС, разработаны новые эффективные лекарства и методы ранней диагностики заболевания, но, несмотря на достигнутые результаты, показатели инвалидности и смертности от ИБС остаются по-прежнему высокими, что выдвигает перед исследователями ряд новых задач, в том числе и фундаментальных, направленных на решение проблемы кардиопротекции при ИБС.

Накопленные к настоящему времени знания о сущности патогенеза ишемической болезни сердца и нарушений, происходящих в энергетическом метаболизме кардиомиоцитов (КМ) при гипоксии, лежащих в основе развития ИБС, привели к пониманию важной роли природных кардиозащитных сигнальных и регуляторных механизмов, активируемых в условиях гипоксии и к необходимости их более пристального изучения.

### МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ К ГИПОКСИИ

В 1996 г. P.W. Hochachka с коллегами высказали предположение, что жизнеспособность миокарда в условиях ишемии обеспечивается адаптацией к гипоксии, которую можно разделить на два этапа в

зависимости от длительности ишемической “атаки”: кратковременную защитную реакцию и фазу “выживания” [2]. За прошедшие десятилетия накоплен большой экспериментальный материал о физиологических и биохимических перестройках, происходящих в организме человека и животных под действием гипоксии и ишемии. Напомним, что первой защитной реакцией на гипоксию является усиление частоты сердечных сокращений, что приводит к увеличению ударного объема крови сердца и возмещению недостатка кислорода в крови. При острой гипоксии, вызванной ишемической атакой, усиливаются процессы газообмена и активируются механизмы транспорта O<sub>2</sub>, возрастает его потребление клетками, интенсифицируются процессы аэробного синтеза АТФ [3]. В то же время клетки, интенсивно потребляющие кислород, включая КМ, в начальный период гипоксии и ишемии способны резко перестраивать свой аэробный метаболизм на анаэробный [4]. При этом увеличивается синтез гликолитических ферментов, таких как гексокиназа, фосфофруктокиназа и пируваткиназа, увеличивается расход АТФ (в том числе и на уровне гексокиназы и фосфофруктокиназы), в связи с этим происходит дополнительный распад энергетических субстратов, включая креатинфосфат, являющийся не только важным источником энергии в миофибриллах, но и основным переносчиком энергии в виде фосфатных групп от митохондрий к миофибриллам [5]. Нарастание мощности гликолиза сопряжено с накоплением промежуточных продуктов гликолиза, в первую очередь лактата, который, снижая способность сократи-

тельных белков КМ связывать  $\text{Ca}^{2+}$  и тем самым уменьшая амплитуду и силу сердечных сокращений [6], играет энергосберегающую роль в механизме краткосрочной адаптации миокарда к гипоксии и ишемии.

Известно, что повышенными возможностями гликолиза остаются и при более длительном приспособлении к гипоксии. В этом случае в адаптационной стратегии организма важную роль приобретает постепенное развитие толерантности КМ к сдвигу кислотно-щелочного равновесия в кислую сторону. Обеспечивается это путем усиления симпорта пировиноградной кислоты и  $\text{H}^+$  в митохондрии и процессов глюконеогенеза, в которых происходит обратное превращение молочной кислоты в пируват. Использование молочной кислоты для ресинтеза глюкозы и дальнейшего получения АТФ является важнейшей приспособительной реакцией КМ к гипоксии. Активация этих биохимических процессов была отмечена и при адаптации, вызванной preconditionированием [7].

На этом этапе приспособительных реакций ключевая роль отводится семействам так называемых ранних генов, продукты которых регулируют экспрессию генов позднего действия. На сегодняшний день установлено, что в сердечно-сосудистой (СС) системе к таким генам относятся NGFI-A, c-jun, junB, c-fos, играющие важную роль в выживаемости КМ при ишемии. В том случае, когда гипоксическое воздействие не приводило к дисфункции миокарда, наблюдалось повышение экспрессии мРНК всех этих генов, так же, как и мРНК генов митохондриальных антиоксидантов [8–10].

В фазу “выживания” в организме происходит более глубокая перестройка углеводного и белкового метаболизма. Это ведет к внутриклеточному накоплению неорганического фосфата,  $\text{H}^+$ , восстановленных динуклеотидов, лактата и увеличению выхода из КМ аденозина,  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{K}^+$ , что оказывает на миокард кардиозащитное действие, с одной стороны, вследствие уменьшения силы и частоты сердечных сокращений (что снижает энергетические затраты клетки, ведет к экономии АТФ и в итоге уменьшает потребность сердца в кислороде), а с другой – стимулирует расширение коронарных сосудов (при участии  $\text{H}^+$ , NO и неорганического фосфата), и тем самым увеличивает снабжение миокарда кислородом.

На фоне активации пре- и посттрансляционных регуляторных механизмов, повышающих выживаемость КМ и резистентность СС системы к действию гипоксии, происходит переход клеток на новый уровень регуляции кислородного гомеостаза, который характеризуется экономизацией энергетического обмена: изменением кинетических свойств ферментов окислительного метаболизма, которому сопутствует увеличение эффективности

окислительного фосфорилирования, появлением новой популяции мелких митохондрий с набором ферментов, позволяющих им работать в этом новом режиме. Кроме того, в данных условиях адаптация к гипоксии на клеточном уровне тесно связана с транскрипционной экспрессией индуцируемых гипоксией генов позднего действия, которые участвуют в регуляции множественных клеточных и системных функций и необходимы для формирования адаптивных признаков [10, 11].

## СИГНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ АДАПТАЦИИ К ИШЕМИИ

При гипоксии в КМ включаются сигнальные каскадные механизмы, ответственные за экспрессию метаболических генов (раннего и позднего ответа) и формирование адаптивной резистентности к дефициту кислорода. Такая активация проявляется уже через 2–5 мин кислородного голодания и протекает на фоне снижения дыхания, связанного с подавлением митохондриальных ферментных комплексов I и IV [12]. Подтверждением вовлечения в адаптивные процессы внутриклеточных сигнальных механизмов, необходимых для формирования толерантности к гипоксии, является активация сукцинат-зависимых сигнальных систем, ключевыми регуляторами которых являются фактор транскрипции, индуцируемый гипоксией HIF (hypoxia-inducible factor) и рецепторы к сукцинату GPR91, открытие митохондриальных АТФ-зависимых  $\text{K}^+$ -каналов (мито $\text{K}_{\text{АТФ}}$ ), усиление связанного с ними АТФ-зависимого транспорта  $\text{K}^+$ , а также повышенная экспрессия адаптогенных митохондриальных белков, индукция посттрансляционных регуляторных механизмов  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаза и др. [12–17]. Известно, что при низких концентрациях кислорода этот процесс контролируется, прежде всего, специфическим транскрипционным фактором HIF-1 $\alpha$ , индуцируемым при гипоксии в КМ, клетках головного мозга, скелетных мышцах и других тканях организма [15, 16].

### ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ HIF-1 $\alpha$

Фактор транскрипции HIF-1 $\alpha$ , открытый в начале 90-х годов, функционирует как сенсор кислорода и главный регулятор кислородного гомеостаза, с помощью которого организм, отвечая на тканевую гипоксию, контролирует экспрессию белков, ответственных за механизм доставки кислорода в клетку, т.е. регулирует адаптивные ответы клетки на изменения оксигенации тканей, в первую очередь, сердца и мозга [18]. В клетках СС системы результатом индукции HIF-1 $\alpha$  является увеличение синтеза ферментов, обеспечивающих транспорт и обмен глюкозы, таких как транспортер глюкозы 1, альдолаза А, енолаза 1, лактатдегидрогеназа, фосфофруктокиназа, что способствует по-

вышению жизнеспособности КМ и клеток сосудистого русла в условиях гипоксии [19].

В настоящее время для HIF-1 $\alpha$  идентифицировано более 100 прямых генов-мишеней. Все они способствуют улучшению доставки кислорода (эритропоэза, ангиогенеза), метаболической адаптации (транспорту глюкозы, усилению гликолитической продукции АТФ, ионному транспорту) и клеточной пролиферации. Продукты HIF-1 $\alpha$ -регулируемых генов действуют на разных функциональных уровнях. Конечным результатом такой активации является увеличение поступления O<sub>2</sub> в клетку [16, 19–22].

Идентификация и клонирование HIF-1 $\alpha$  позволили установить, что он представляет собой гетеродимерный редокс-чувствительный белок, состоящий из двух субъединиц: индуцибельно экспрессируемой кислородочувствительной субъединицы HIF-1 $\alpha$  и конститутивно экспрессируемой субъединицы HIF-1 $\beta$  (транслокатор арилгидрокарбонного ядерного рецептора – aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator – ARNT). Гетеродимеризуясь с арилкарбонным рецептором (AHR), HIF-1 образует функциональный диоксиновый ядерный рецептор [23].

HIF-1 $\alpha$  состоит из 826 аминокислотных остатков (120 kD) и содержит в amino-терминальной (N-концевой) части каждой субъединицы два домена, ответственные за связывание ДНК. Это основной домен “спираль–петля–спираль” (basic helix-loop-helix – bHLH), характерный для самых различных транскрипционных факторов и необходимый для димеризации и связывания ДНК [24], и PAS-домен, обеспечивающий более прочное связывание субъединиц HIF-1 с ДНК и взаимодействие с белками, модулирующими его активность [24–28]. Установлено, в частности, что с доменами HLH-PAS HIF-1 $\alpha$  в нормоксических условиях взаимодействует белок теплового шока HSP90, что ограничивает кислород-независимую деградацию субъединицы и способствует ядерной транслокации HIF-1 $\alpha$  при гипоксии [28, 29].

Помимо bHLH- и PAS-доменов, белки HIF-1 $\alpha$  содержат функциональные домены, ответственные за транскрипционную активность и деградацию в условиях нормоксии. Домены транскрипционной активации (transactivation domain; TAD) локализованы между остатками 531–575 (N-концевой TAD) и в карбокситерминальной области HIF-1 $\alpha$  (C-концевой TAD), содержат редокс-чувствительные остатки цистеина, ответственные за взаимодействие субъединицы с коактиваторами транскрипции, такими как CREB-связывающий протеин (CBP), p300, SRC-1, TIF-2. В условиях нормоксии в TAD-C домене HIF-1 $\alpha$  остаток аспарагина (Asn-803) гидроксилируется аспарагин-гидроксилазой FIH (factor inhibiting HIF), что нарушает связывание коактиваторов транскрипции и

предотвращает транскрипционную активацию HIF-1 $\alpha$  в негипоксических условиях [30, 31].

В нормоксических условиях синтез HIF-1 $\alpha$  происходит с невысокой скоростью и его содержание минимально, так как он подвергается быстрой убиквитинации и деградации протеасомами. Этот процесс зависит от взаимодействия имеющегося в первичной структуре HIF-1 $\alpha$  и специфичного для него кислородозависимого домена деградации (ODDD – oxygen dependent degradation domain) с протеинлигазой – белком von Hippel Lindau (VHL), являющимся супрессором опухолевого роста [32, 33].

Молекулярной основой для такой регуляции является O<sub>2</sub>-зависимое гидроксирование двух его пролиновых остатков P-402 и P-564, входящих в структуру HIF-1 $\alpha$ , одним из трех ферментов, известных под общим названием “белки пролилгидроксилазного домена (PHD)”, или “HIF-1 $\alpha$ -пролилгидроксилазы”, что необходимо для связывания HIF-1 $\alpha$  с белком VHL. Обязательными компонентами процесса являются также  $\alpha$ -кетоглутарат, витамин С и железо. Наряду с этим происходит гидроксирование остатка аспарагина в C-терминальном трансактивационном домене (C-TAD), что приводит к подавлению транскрипционной активности HIF-1 $\alpha$ . После гидроксирования остатков пролина в ODDD и остатка аспарагина происходит связывание HIF-1 $\alpha$  с белком VHL, которое делает доступной эту субъединицу для протеасомной деградации [31].

В условиях резкого дефицита кислорода кислород-зависимый процесс гидроксирования пролиновых остатков, характерный для нормоксии, подавляется. В силу этого VHL не может связаться с HIF-1 $\alpha$ , его деградация протеасомами ограничивается, что делает возможным его аккумуляцию. В отличие от этого p300 и CBP могут связываться с HIF-1 $\alpha$ , так как этот процесс не зависит от аспарагинил-гидроксирования. Это обеспечивает активацию HIF-1 $\alpha$ , его транслокацию в ядро, димеризацию с HIF-1 $\beta$ , приводящую к конформационным изменениям, образованию транскрипционного активного комплекса (HRE), запускающего активацию широкого спектра HIF-1 $\alpha$ -зависимых генов-мишеней и синтез защитных адаптивных белков в ответ на гипоксию [14–16, 34].

При адаптации к гипоксии HIF-1 $\alpha$  реализует свое действие, в том числе, и через влияние на энергетический метаболизм митохондрий КМ, при этом установлено, что под контролем этого транскрипционного фактора находятся аконитаза и комплекс I электронной транспортной цепи митохондрий, в то время как комплекс IV от него не зависит [12].

Вышеприведенные механизмы внутриклеточной сигнальной трансдукции происходят в клетке при ее адаптации к гипоксии. В случае, когда на-

ступает дезадаптация, в КМ накапливаются активные формы кислорода (АФК), которые активизируют процессы апоптоза. В этом случае HIF-1 $\alpha$  вовлекается в патогенез ишемической болезни сердца и развитие кардиомиопатии [35, 36].

Помимо HIF-1 $\alpha$  в семейство белков, индуцируемых гипоксией, входят белки HIF-2 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$ , однако в отличие от HIF-1 $\alpha$ , их функции остаются менее изученными. Известно, что HIF-2 $\alpha$  контролирует продукцию катехоламинов на стадии эмбриогенеза, в постнатальном периоде и, предположительно, конкурирует с HIF-1 $\alpha$  за связывание отвечающих на гипоксию элементов генома (hypoxia-responsive element; HRE) [37, 38]. HIF-3 $\alpha$ , в отличие от HIF-1 $\alpha$  и HIF-2 $\alpha$ , не содержит домен трансактивации и является негативным регулятором генов, индуцируемых гипоксией [39].

### РОЛЬ СУКЦИНАТА. СУКЦИНАТ-ЗАВИСИМЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

Главной биохимической мишенью гипоксии в разных клеточных системах является аэробный энергетический обмен. Признаки угнетения ведущих энергозависимых функционально-метаболических процессов появляются при снижении внутриклеточного содержания АТФ на 15–20% от нижней границы физиологической нормы, а при падении уровня АТФ на 30% наблюдается их полное угнетение [40]. Это имеет принципиальное значение для жизнедеятельности клетки в условиях дефицита кислорода. Нарушение синтеза энергии в этих условиях, приводящее к снижению уровня внутриклеточного АТФ ниже физиологической нормы и сопутствующему подавлению энергозависимых процессов, лежит в основе мультисистемности и полиорганности функционально-метаболических нарушений, характерных для гипоксии [16].

Митохондриальная дыхательная цепь, ответственная за аэробный синтез АТФ, является сенсором кислорода, регулятором и модулятором потребления кислорода и скорости его поступления из внеклеточной среды в клетку, т.е. участвует в поддержании кислородного гомеостаза. Она не только принимает непосредственное участие в сложнейшей системе внутриклеточной и межклеточной сигнализации, но в условиях гипоксии участвует в формировании как ранних, так и поздних адаптивных признаков, благодаря чему обеспечивается системный ответ организма на дефицит кислорода [16, 41, 42]. Все это делает проблему регуляции энергетического обмена, поддержания и сохранения энергетического гомеостаза, как на клеточном уровне, так и на уровне организма, исключительно актуальной и требует изучения и понимания механизмов его нарушения.

Согласно современным представлениям, увеличение резистентности к гипоксии сопряжено с регуляторным переключением транспорта электронов в дыхательной цепи, направленного на активацию энергетически более эффективного в условиях гипоксии сукцинатоксидазного пути окисления субстратов [40–42]. При отсутствии такого переключения срочные механизмы адаптации не формируются [16]. Таким образом, сукцинат – субстрат цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и фермента дыхательной цепи сукцинатдегидрогеназы – выполняет роль сигнальной молекулы, включающейся при гипоксии в поддержание жизненно важных метаболических процессов, т.е. в регуляторный процесс митохондриально-клеточно-системных взаимодействий, обеспечивающих формирование срочных механизмов адаптации к дефициту кислорода [16, 42].

При ишемии миокарда и головного мозга, а также других заболеваниях, связанных с недостаточным кровоснабжением, уровень сукцината в сыроворотке крови может повышаться, что можно объяснить усилением синтеза сукцината в ЦТК, вследствие стимуляции окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -кетоглутарата под действием АФК, интенсивно образующихся при ишемии [42, 43]. В отсутствие  $\alpha$ -кетоглутарата внемитохондриальный сукцинат образуется из глутамин и аланина, распад которых также усиливается при ишемии [43, 44]. В результате повышения синтеза сукцината его внеклеточная концентрация многократно увеличивается, что приводит к активации сукцинат-зависимых сигнальных путей, запускаемых связыванием сукцината с сукцинатными рецепторами GPR91, локализованными на поверхности многих клеток, включая КМ [45].

По своей структуре сукцинатные рецепторы GPR91 относятся к суперсемейству рецепторов, сопряженных с G-белками (G-protein-coupled receptors, GPCRs), которые специфически связывают лиганды и реализуют сигналы более, чем 80% гормонов, факторов роста и нейротрансмиттеров [46]. К этому суперсемейству относятся хорошо изученные рецепторы катехоламинов, ацетилхолина, глутамата, ГАМК, серотонина, гистамина, ангиотензинов, эндотелинов и др. [47]. Но в то же время список рецепторов, входящих в это суперсемейство, все время пополняется. Секвенирование генома человека позволило выявить множество новых рецепторов, сопряженных с G-белками. Так, в 2001 г. в структуре 3q24–3q25 хромосомы был идентифицирован кластер из шести генов, кодирующих GPCRs [48]. Для четырех из обнаруженных рецепторов (GPR91, GPR86, GPR87, H963) лиганды были неизвестны. Исследование GPR91 показало, что рецептор вовлекается во внутриклеточную Ca<sup>2+</sup>-сигнализацию. Так, в культуре эпителиальных клеток извитого канальца нефрона активация GPR91 вытяжкой ткани почки

свиньи вызывала увеличение внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [45, 48, 49]. Высокая структурная гомология GPR91 с представителями семейства P2Y пуринорецепторов предопределила поиски природного агониста GPR91 среди пуриновых соединений. Однако лиганд GPR91 был невосприимчив к воздействию щелочной фосфатазы и гидролизу в 6M HCL при 100°C, а следовательно, не имел нуклеотидной природы [45].

По результатам масс-спектрометрии (наличию в лиганде метиленовых и карбонильных групп) и способности соединения активировать GPR91 в качестве агониста рецептора была идентифицирована янтарная кислота. Причем активация рецептора янтарной кислотой осуществлялась с высокой специфичностью. Ни один из других интермедиатов цикла трикарбонных кислот или известных лигандов GPCRs, а также 800 тестированных фармакологических препаратов не влиял на активность GPR91. Исключение составили малеиновая кислота (транс-изомер фумаровой кислоты) и метилмалоновая кислота, которые активировали GPR91 с 5-кратным и 10-кратным снижением эффективности по сравнению с сукцинатом. После идентификации лиганда GPR91 был назван сукцинатным рецептором (succinate receptor 1 – SUCNR1) [45].

Высокоспецифичное взаимодействие сукцината с GPR91 опосредуется четырьмя положительно заряженными аминокислотными остатками (аргинина-99, гистидина-103, аргинина-252, аргинина-281) в связывающих полостях, образованных трансмембранными доменами рецептора. Мутации белка по этим остаткам отменяли активацию рецептора [45]. Пространственная структура GPR91, так же как у других представителей суперсемейства GPCRs, представляет собой семь  $\alpha$ -спиралей, пронизывающих мембрану (гидрофобные трансмембранные домены) [46, 50, 51]. N-концевой участок рецепторов находится на внеклеточной стороне мембраны и содержит участки гликозилирования. С-концевой участок локализован на цитоплазматической стороне клеточной мембраны, содержит редокс-чувствительные высококонсервативные цистеиновые остатки [47, 51].

В кардиомиоцитах рецепторы GPR91 обнаружены в структуре сарколеммы и Т-трубочек [52, 53]. В культуре клеток их активация сукцинатом вызывала увеличение внутриклеточного уровня  $\text{Ca}^{2+}$ , протеинкиназы А и  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулин-зависимой протеинкиназы II $\delta$  (СаМКII $\delta$ ). Активация  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых киназ приводила к фосфорилированию риадиноинового рецептора, встроенного в мембрану саркоплазматического ретикулума (СР), что, в свою очередь, вызывало его продолжительную активацию, приводило к открытию  $\text{Ca}^{2+}$  каналов СР и повышению эффективности электромеханического сопряжения в КМ [52–56]. Наличие стиму-

лирующих эффектов сукцината на ключевые компоненты GPR91-активируемого пути и их отмена при использовании соответствующих ингибиторов дает основание полагать, что в условиях организма рецепторы GPR91 и активируемый сукцинатом сигнальный путь обеспечивают ремоделирование и адаптацию сердечной мышцы к условиям ишемии [16, 52].

При ишемической болезни сердца устойчивое увеличение содержания сукцината в миокарде и циркуляторном русле (0.9–2.69 ммоль/л), продолжительная активация GPR91 связаны с нарушениями СаМКII $\delta$ -опосредованной сигнализации, включающими: гиперфосфорилирование риадиноинового рецептора, утечку ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из СР в фазу диастолы и нарушение расслабления миокарда; фосфорилирование деацетилаз гистонов и активацию генов ремоделирования КМ; активацию апоптотических сигнальных путей [52, 53, 57–60]. При этом ингибирование повышенной экспрессии  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулин-зависимых киназ и гена GPR91 с применением siRNA отменяло развитие сукцинат-индуцированной гипертрофии миокарда левого желудочка и дальнейшее развитие кардиомиопатии [52, 60–62].

Таким образом, полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о важной роли рецепторов GPR91 и сукцинат-зависимых сигнальных путей в развитии биохимической адаптации КМ к физиологической гипоксии и адаптивной гипертрофии, при длительной патологической ишемии.

#### МЕХАНИЗМЫ КАРДИОПРОТЕКЦИИ, ОПОСРЕДОВАННЫЕ АТФ-ЗАВИСИМЫМИ $\text{K}^+$ -КАНАЛАМИ

АТФ-зависимые  $\text{K}^+$ -каналы ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) цитоплазматической и митохондриальной мембран изучаются довольно интенсивно. Интерес к этим структурам вызван тем, что, как показали исследования последних лет,  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -каналы участвуют в защите миокарда от ишемии [63–65]. Наибольшая роль в кардиозащите отводится митохондриальным АТФ-зависимым калиевым каналам (мито $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) [63, 64].

Изучение свойств мито $\text{K}_{\text{ATP}}$  показало, что они относятся к семейству АТФ-зависимых калиевых каналов, впервые обнаруженных в сарколемме КМ [66].  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -каналы – это функциональные октамеры, которые состоят из четырех канальных Kir6.x-субъединиц, формирующих пору канала, и четырех рецепторных белков SURx-рецепторов к сульфонилмочевине (sulphonylurea receptors). Название последней субъединицы обусловлено тем, что при блокировании канала сульфонилмочевинной она связывается именно с SUR [67].

Kir6.x включает в себя два трансмембранных участка и один погруженный в мембрану и формирующий внутреннюю поверхность поры канала с селективным фильтром для ионов  $K^+$ . Kir-субъединица отвечает за поддержание канала в закрытом состоянии (за исключением каналов в гладких мышцах). Селективность  $K_{ATФ}$ -каналов к ионам  $K^+$  обусловлена наличием фильтра (сегмента H5), расположенного в самой узкой части канала. При этом конформацию и жестко закрепленный размер селективной поры обеспечивает высококонсервативная консенсусная последовательность (Thr-Val-Gly-Tyr-Gly) [68]. SUR-субъединица состоит из трех трансмембранных доменов (TMD0, TMD1, TMD2), первый из которых содержит в себе пять, а остальные два – шесть трансмембранных сегментов. Между TMD1 и TMD2 и после TMD2 на цитоплазматической стороне мембраны находятся нуклеотид-связывающие домены (NBD1 и NBD2). Именно SURx-субъединицы отвечают за активацию канала. Они относятся к классу ABC-транспортёров (ATP-binding cassette transporters), основная функция которых – транслокация различных субстратов вдоль мембраны для использования энергии АТФ на нужды самой клетки [69].

Для каждого типа клеток характерна своя конфигурация порообразующих и рецепторных субъединиц  $K_{ATФ}$ . Для клеток миокарда характерна конфигурация Kir6.2-SUR2A. Но, если порообразующая единица типична для всех изоформ  $K_{ATФ}$ -каналов, присутствующих в КМ, то SUR1A экспрессируется в предсердных КМ, в то время как SUR2A – в желудочковых КМ [70]. Все вариации  $K_{ATФ}$  кодируются четырьмя генами: KCNJ8, KCNJ11, ABCC8, ABCC9. Они отвечают за экспрессию субъединиц Kir6.1, Kir6.2, SUR1 и SUR2 соответственно. Последняя образует два сплайс-варианта – SUR2A и SUR2B, из которых изоформа SUR2B характерна для  $K_{ATФ}$ -каналов гладкомышечных клеток сосудов (конфигурация Kir6.1-SUR2B) [71].

При физиологических условиях  $K_{ATФ}$ -каналы КМ находятся в закрытом состоянии. Каналы открываются в условиях функциональной перегрузки сердечной мышцы при снижении цитоплазматического уровня АТФ, сопровождающем гипоксию. Вследствие активации  $K_{ATФ}$ -каналов саркоlemma КМ гиперполяризуется, амплитуда потенциала действия уменьшается, в результате приток  $Ca^{2+}$  через потенциал-управляемые  $Ca^{2+}$ -каналы ограничивается, и соответственно уменьшается время неэффективного сокращения миокарда [72]. Это свойство  $K_{ATФ}$ -каналов имеет важное значение для работы сердечной мышцы при развитии молекулярных адаптационных механизмов, индуцированных ишемией. Более того, было постулировано, что  $K_{ATФ}$ -каналы являются конечными мишенями ишемического прекодиционирования

(сокращение зоны инфаркта и восстановление ритма сердца) [73].

Митохондриальные АТФ-зависимые калиевые каналы (мито $K_{ATФ}$ ) впервые были обнаружены в митохондриях млекопитающих в начале 90-х годов и реконструированы в бислоидной липидной мембране [74, 75]. В результате проведенных исследований были определены их основные физико-химические свойства и механизмы активации. В частности, было установлено, что mito $K_{ATФ}$  ингибируются длинноцепочечными активированными жирными кислотами и физиологическими концентрациями АТФ и активируются гуанидиновыми дифосфатами [76, 77]. К настоящему времени известно, что mito $K_{ATФ}$ , локализованные во внутренней мембране митохондрий КМ, по структуре и свойствам близки к саркоlemmaльным  $K_{ATФ}$  и состоят из канальных (митоKIR) и регуляторных (митоSUR) субъединиц, образуя комплекс Kir6.2-SUR2A [78].

Основную функцию mito $K_{ATФ}$  связывают с регуляцией объема митохондрий, что оказывает влияние на синтез АТФ, дыхание митохондрий, окисление жирных кислот и несократительный термогенез [16, 76, 79, 80]. В то же время mito $K_{ATФ}$ , влияя на транспорт  $K^+$  в митохондриях (при стимуляции работы mito $K_{ATФ}$  активируется система выхода калия из митохондрий в обмен на протоны), могут снижать интенсивность окислительного стресса и тем самым способствовать восстановлению энергетического баланса в ишемизированном миокарде [81].

Точные механизмы защитного действия mito $K_{ATФ}$  пока еще до конца не выяснены, но предполагается, что активация mito $K_{ATФ}$  может сохранять пул АТФ во время ишемии, а снижение митохондриального мембранного потенциала приводит к уменьшению входа  $Ca^{2+}$  в митохондрии, что тоже оказывает защитный эффект во время ишемии, более того, дополнительный вход ионов  $K^+$  во время активации канала может продолжительно сохранять пул этих катионов в КМ, большой выход которых наблюдается во время сокращения при ишемии [16].

Обобщая сказанное, можно заключить, что в основе кардиопротекции лежат общие молекулярные механизмы, направленные на сохранение жизнеспособности клеток миокарда в условиях недостатка кислорода, которое осуществляется путем поддержания энергообеспечения КМ на необходимом уровне – за счет смены энергетических субстратов и реципрокной регуляции метаболизма глюкозы; снижения потребности КМ в энергии посредством уменьшения сократительной способности миокарда; повышения толерантности КМ к сдвигам кислотно-щелочного равновесия, индукции молекулярных механизмов регуляции транспорта ионов

K<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup>, вызванных гипоксией, а также активацией сигнальных механизмов, которые обеспечивают постепенное развитие толерантности КМ к длительной перегрузочной гипоксии или ишемии, вызванной развитием сердечно-сосудистой патологии.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания (№ г.р.: АААА-А18-118012290142-9).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов изучения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бойцов С.А., Самородская И.В., Никулина Н.Н., Якушин С.С., Андреев Е.М., Заратьянц О.В., Барбараш О.Л.* Сравнительный анализ смертности населения от острых форм ишемической болезни сердца за пятнадцатилетний период в РФ и США и факторов, влияющих на ее формирование. *Терапевтический архив*. 89 (9): 53–59. 2017. [*Boytsov S.A., Samorodskaya I.V., Nikulina N.N., Yakushin S.S., Andreev E.M., Zaratyants O.V., Barbarash O.L.* Comparative analysis of mortality from acute forms of ischemic heart disease during a 15-year period in the Russian Federation and the United States and the factors influencing its formation. *Terapevticheskij arhiv*. 89 (9): 53–59. 2017. (In Russ.)].
2. *Hochachka P.W., Buck L.T., Doll C.J., Land S.C.* Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. *Proc. Natl. Acad. Sci U S A*. 93: 9493–9438. 1996.
3. *Меерсон Ф.З.* Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. *Hypoxia Medical J*. 168–226. 1993. [*Meerson F.Z.* Adaptation medicine: mechanisms and protective effects of adaptation. *Hypoxia Medical J*. 168–226. 1993. (In Russ.)].
4. *Барбашова З.И.* Акклиматизация к гипоксии и ее физиологические механизмы. Л.: Изд-во АН СССР, 1960. [*Barbashova Z.I.* Akklimatizaciya k gipoksii i ee fiziologicheskie mekhanizmy [Acclimatization to a hypoxia and its physiological mechanisms]. L. Izd. RAN USSR. 1960.]
5. *Чарный А.М.* Патопфизиология гипоксических состояний. М.: Медгиз. 1961. [*Charnii A.M.* Patofiziologiya gipoksicheskikh sostoyanij [Pathophysiology of hypoxic states]. M.: Medgiz. 1961.]
6. *Allen D.G., Orchard C.H.* Measurements of intracellular calcium concentration in heart muscle: the effects of inotropic interventions and hypoxia. *J. Mol. Cell Cardiol*. 16: 117–128. 1984.
7. *Nederlof R., Eerbeek O., Hollmann M. W., Southworth R., Zuurbier C. J.* Targeting hexokinase II to mitochondria to modulate energy metabolism and reduce ischaemia-reperfusion injury in heart. *Br. J. Pharmacol*. 171: 2067–2079. 2014.
8. *Ma M.Y., Xu X.* Experiment study of c-fos expression on myocardial acute ischemia/reperfusion injury in rats. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 19: 65–67. 2003.
9. *Salameh A., Dhein S.* Adrenergic control of cardiac gap junction function and expression. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol*. 383: 331–346. 2011.
10. *Макаренко А.Н., Карандеева Ю.К.* Адаптация к гипоксии как защитный механизм при патологических состояниях. *Вестник проблем биологии и медицины*. 2(100): 27–31. 2013. [*Makarenko A.N., Karandeeva Yu.K.* Adaptation to Hypoxia as a protective mechanisms in Pathological conditions. 2 (100): 27–31. 2013. (In Russ.)].
11. *Azad P., Stobdan T., Zhou D., Hartley I., Akbari A., Bafna V., Haddad G. G.* High-altitude adaptation in humans: from genomics to integrative physiology. *J. Mol. Med. (Berl)*. 95: 1269–1282. 2017.
12. *Ambrose L.J., Abd-Jamil A.H., Gomes R.S., Carter E.E., Carr C.A., Clarke K., Heather L.C.* Investigating mitochondrial metabolism in contracting HL-1 cardiomyocytes following hypoxia and pharmacological HIF activation identifies HIF-dependent and independent mechanisms of regulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther*. 19: 574–585. 2014.
13. *Bell E.L., Klimova T.A., Eisenbart J., Moraes C.T., Murphy M.P., Budinger G.R.S., Chandel N.S.* The Qo site of the mitochondrial complex III is required for the transduction of hypoxic signaling via reactive oxygen species production. *J. Cell Biol*. 177: 1029–1036. 2007.
14. *Chandel N.S., Maltepe E., Goldwasser E., Mathieu C.E., Simon M.C., Schumacker P.T.* Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 95: 11715–11720. 1998.
15. *Alexander-Shani R., Mreisat A., Smeir E., Gerstenblith G., Stern M.D., Horowitz M.* Long-term HIF-1 $\alpha$  transcriptional activation is essential for heat-acclimation-mediated cross tolerance: mitochondrial target genes. *Am. J. Physiol Regul. Integr Comp. Physiol*. 312: R753–R762. 2017.
16. *Кирова Ю.И.* Регуляторная роль сукцинатзависимых сигнальных систем (HIF-1 $\alpha$  и GPR91) при адаптации к гипоксии (экспериментальное исследование). Автореф. докт. дисс. Москва, 2016. [*Kirova Yu.I.* Regulatornaya rol' sukcinatzavisimyh signal'nyh sistem (HIF-1 $\alpha$  i GPR91) pri adaptacii k gipoksii (ehksperimental'noe issledovanie). [Regulatory role of succinate-dependent alarm systems (HIF-1 $\alpha$  i GPR91) at adaptation to a hypoxia (pilot study). Avtoref. dokt. diss. Moscow. 2016].
17. *Горбачева О.С.* АТФ-зависимый транспорт K<sup>+</sup> и продукция активных форм кислорода в физиологических и патологических состояниях организма, связанных с развитием гипоксии. Автореф. канд. дисс. Пушино. 2016. [*Gorbacheva O.S.* ATF-zavisimyj transport K<sup>+</sup> i produkciya aktivnyh form kisloroda v fiziologicheskikh i patologicheskikh sostoyaniyah organizma, svyazannyh s razvitiem gipoksii (Aveksperimental'noe issledovanie). [ATP-dependent transport K<sup>+</sup> and products of active forms of oxygen in the physiological and pathological conditions of an or-

- ganism connected with development of a hypoxia]. Avtoref. kand. diss. Pushchino, 2016.]
18. *Semenza G.L., Wang G.L.* A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol. Cell. Biol.* 12: 5447–5454. 1992.
  19. *Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factor 1: oxygen homeostasis and disease pathophysiology. *Trends Mol. Med.* 7: 345–350. 2001.
  20. *Semenza G.L., Shimoda L.A., Prabhakar N.R.* Regulation of gene expression by HIF-1. *Novartis Found Symp.* 272: 2–8. 2006.
  21. *Yin H.L., Luo C.W., Dai Z.K., Shaw K.P., Chai C.Y., Wu C.C.* Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , vascular endothelial growth factor, inducible nitric oxide synthase, and endothelin-1 expression correlates with angiogenesis in congenital heart disease. *Kaohsiung J. Med. Sci.* 32: 348–355. 2016.
  22. *Yue X., Lin X., Yang T., Yang X., Yi X., Jiang X., Li X., Li T., Guo J., Dai Y., Shi J., Wei L., Youker K.A., Torre-Amione G., Yu Y., Andrade K.C., Chang J.* Rnd3/RhoE modulates hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ /vascular endothelial growth factor signaling by stabilizing hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  and regulates responsive cardiac angiogenesis. *Hypertension.* 67: 597–605. 2016.
  23. *Wang G.L., Semenza G.L.* Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 270: 1230–1237. 1995.
  24. *Crews S.T.* Control of cell lineage specific development and transcription by bHLH-PAS proteins. *Genes Dev.* 12: 607–620. 1998.
  25. *Jiang B.H., Rue E., Wang G.L., Roe R., Semenza G.L.* Dimerization, DNA binding and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 271: 17771–17778. 1996.
  26. *Isaacs J.S., Jung Y.J., Neckers L.* Aryl hydrocarbon nuclear translocator (ARNT) promotes oxygen-independent stabilization of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  by modulating an Hsp90-dependent regulatory pathway. *J. Biol. Chem.* 279: 16128–16135. 2004.
  27. *Katschinski D.M., Le L., Schindler S.G., Thomas T., Voss A.K., Wenger R.H.* Interaction of the PAS B domain with HSP90 accelerates hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  stabilization. *Cell Physiol. Biochem.* 14: 351–360. 2004.
  28. *Zhang D., Li J., Costa M., Gao J., Huang C.* JNK1 mediates degradation HIF-1 $\alpha$  by a VHL-independent mechanism that involves the chaperones HSP90/HSP70. *Cancer Res.* 70: 813–823. 2010.
  29. *Antonsson C., Whitelaw M.L., McGuire J., Gustafsson J.-A., Poellinger L.* Distinct roles of the molecular chaperone hsp90 in modulating dioxin receptor function via the basic helix-loop-helix and PAS domains. *Mol. Cell Biol.* 15: 756–765. 1995.
  30. *Semenza G.L.* Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level. *Physiology.* 176–182. 2004.
  31. *Fandrey J., Gorr T.A., Gassmann M.* Regulating cellular oxygen sensing by hydroxylation. *Cardiovasc. Res.* 71: 642–651. 2006.
  32. *Huang L.E., Gu J., Schau M., Bunn H.F.* Regulation of hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  is mediated by an O<sub>2</sub>-dependent degradation domain via the ubiquitin proteasome pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 7987–7992. 1998.
  33. *Buckley D.L., Van Molle I., Gareiss P.C., Tae H.S., Michel J., Noblin D.J., Jorgensen W.L., Ciulli A., Crews C.M.* Targeting the von Hippel-Lindau E3 ubiquitin ligase using small molecules to disrupt the VHL/HIF-1 $\alpha$  interaction. *J. Am. Chem. Soc.* 2012. 14: 4465–4468.
  34. *Rhim T., Lee D.Y., Lee M.* Hypoxia as a target for tissue specific gene therapy. *J. Control Release.* 172: 484–494. 2013.
  35. *Bekeredjian R., Walton C.B., MacCannell K.A., Ecker J., Kruse F., Outten J.T., Sutcliffe D., Gerard R.D., Bruick R.K., Shohet R.V.* Conditional HIF-1 $\alpha$  expression produces a reversible cardiomyopathy. *PLoS One.* 5: e11693. 2010.
  36. *Abe H., Semba H., Takeda N.* The roles of hypoxia signaling in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *J. Atheroscler. Thromb.* 24: 884–894. 2017.
  37. *Drevytska T., Gavenauskas B., Drozdovska S., Nosar V., Dosenko V., Mankovska I.* HIF-3 $\alpha$  mRNA expression changes in different tissues and their role in adaptation to intermittent hypoxia and physical exercise. *Pathophysiology.* 19: 205–214. 2012.
  38. *Brusselmans K., Bono F., Maxwell P., Dor Y., Dewerchin M., Collen D., Herbert J.-M., Carmeliet P.* Hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  (HIF-2 $\alpha$ ) is involved in the apoptotic response to hypoglycemia but not to hypoxia. *J. Biol. Chem.* 276: 39192–39196. 2001.
  39. *Makino Y., Kanopka A., Wilson W., Nanaka H., Poellinger L.* Inhibitory PAS domain protein (IPAS) is a hypoxia-inducible splicing variant of the hypoxia-inducible factor-3 $\alpha$  locus. *J. Biol. Chem.* 277: 32405–32408. 2002.
  40. *Дудченко А.М.* Энергетический метаболизм и механизмы стабилизации АТФ в гепатоцитах при гипоксии. Автореф. докт. дисс. Москва, 2003. [Dudchenko A.M. Energeticheskiy metabolizm i mekhanizmy stabilizatsii ATF v gepatocitah pri gipoksii [Energy metabolism and mechanisms of stabilization of ATP in hepatocytes at a hypoxia]. Avtoref. dokt. diss. Moscow. 2003.]
  41. *Seppet E., Gruno M., Peetsalu A., Gizatullina Z., Nguyen H.P., Vielhaber S., Wussling M.H., Trumbeckaite S., Arandarcikaite O., Jerzembeck D., Sonnabend M., Jegorov K., Zierz S., Striggow F., Gellerich F.N.* Mitochondria and energetic depression in cell pathophysiology. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 2252–2303. 2009.
  42. *Lukyanova L.D.* Mitochondria signaling in adaptation to hypoxia. *Int. J. Physiol. Pathophysiol.* 363–381. 2014.
  43. *Fedotcheva N.I., Sokolov A.P., Kondrashova M.N.* Non-enzymatic formation of succinate in mitochondria under oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 41: 56–64. 2006.
  44. *Krebs H.A.* Rate control of the tricarboxylic acid cycle. *Adv. Enzyme Regul.* 8: 335–353. 1970.
  45. *He W., Miao F.J., Lin D.C., Schwandner R.T., Wang Z., Gao J., Chen J.L., Tian H., Ling L.* Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. *Nature.* 429: 188–193. 2004.
  46. *Alavi M.S., Shamsizadeh A., Azhdari-Zarmehri H., Roohbakhsh A.* Orphan G-protein-coupled receptors: The role in CNS disorders. *Biomed Pharmacother.* 98:222–232. 2017.



47. Rosenbaum D.M., Rasmussen S.G., Kobilka B.K. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature*. 459: 356–363. 2009.
48. Wittenberger T., Schaller H.C., Hellebrand S. An expressed sequence tag (EST) data mining strategy succeeding in the discovery of new G-protein coupled receptors. *J. Mol. Biol.* 307: 799–813. 2001.
49. Ariza A.C., Deen P.M.T., Robben J.H. The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related conditions. *Front. Endocr. Mol. Struct. Endocrinol.* 3: 1–8. 2012.
50. Iismaa T.P., Shine J. G protein-coupled receptors. *Curr. Opin. Cell Biol.* 4: 195–202. 1992.
51. Strange P.G. G-protein coupled receptors. Conformations and states. *Biochem. Pharmacol.* 58:1081–1088. 1999.
52. Aguiar C.J., João A. Rocha-Franco, Pedro A Sousa, Anderson K Santos, Marina Ladeira, Cibele Rocha-Resende, Luiz O Ladeira, Rodrigo R Resende, Fernando A Botoni, Marcos Barrouin Melo, Cristiano X Lima, José M Carbalido, Thiago M Cunha, Gustavo B Menezes. Succinate causes pathological cardiomyocyte hypertrophy through GPR91 activation *Cell Commun. Signal*: 12: 78. 2014.
53. Aguiar C.J., Andrade V.L., Gomes E.R., Alves M.N., Ladeira M.S., Pinheiro A.C., Gomes D.A., Almeida A.P., Goes A.M., Resende R.R., Guatimosim S., Leite M.F. Succinate modulates Ca<sup>2+</sup> transient and cardiomyocyte viability through PKA-dependent pathway. *Cell Calcium*. 47: 37–46. 2010.
54. Hain J., Onoue H., Mayrleitner M., Fleischer S., Schindler H. Phosphorylation modulates the function of the calcium release channel of sarcoplasmic reticulum from cardiac muscle. *J. Biol. Chem.* 270: 2074–2081. 1995.
55. Li L., Satoh H., Ginsburg K.S., Bers D.M. The effect of Ca<sup>2+</sup>-calmodulin-dependent protein kinase II on cardiac excitation – contraction coupling in ferret ventricular myocytes. *J. Physiol.* 501: 17–31. 1997.
56. Witcher D.R., Kovacs R.J., Schulman H., Cefali D.C., Jones L.R. Unique phosphorylation site on the cardiac ryanodine receptor regulates calcium channel activity. *J. Biol. Chem.* 266: 11144–11152. 1991.
57. Ai X., Curran J.W., Shannon T.R., Bers D.M., Pogwizd S.M. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase modulates cardiac ryanodine receptor phosphorylation and sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> leak in heart failure. *Circ. Res.* 97: 1314–1322. 2005.
58. Backs J., Song K., Bezprozvannaya S., Chang S., Olson E.N. CaM kinase II selectively signals to histone deacetylase 4 during cardiomyocyte hypertrophy. *J. Clin. Invest.* 116: 1853–1864. 2006.
59. Wright S.C., Schellenberger U., Ji L., Wang H., Larrick J.W. Calmodulin-dependent protein kinase II mediates signal transduction in apoptosis. *FASEB J.* 11: 843–849. 1997.
60. Zhang T., Brown J.H. Role of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II in cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc. Research.* 63: 476–486. 2004.
61. Bossuyt J., Helmstaedter K., Wu X., Clements-Jewery H., Haworth R.S., Avkiran M., Martin J.L., Pogwizd S.M., Bers D.M. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II delta and protein kinase D overexpression reinforce the histone deacetylase 5 redistribution in heart failure. *Circ. Res.* 102: 695–702. 2008.
62. Maier L.S., Bers D.M., Brown J.H. Calmodulin and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin kinases in the heart – physiology and pathophysiology. *Cardiovasc. Res.* 73: 629–630. 2007.
63. Grover G.J., Burkett D.E., Parham C.S., Scalese R.J., Sadanaga K.K. Protective effect of mitochondrial KATP activation in an isolated gracilis model of ischemia and reperfusion in dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 42: 790–792. 2003.
64. Garlid K.D., Costa A.D., Quinlan C.L., Pierre S.V., Dos Santos P. Cardioprotective signaling to mitochondria. *J. Mol. Cell Cardiol.* 46: 858–866. 2009.
65. Gross G.J., Hsu A., Pfeiffer A.W., Nithipatikom K. Roles of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and mitochondrial permeability transition pore (MPTP) in epoxyeicosatrienoic acid (EET)-induced cardioprotection against infarction in intact rat hearts. *J. Mol. Cell Cardiol.* 59: 20–29. 2013.
66. Noma A. ATP-regulated K<sup>+</sup> channels in cardiac muscle. *Nature*. 305: 147–148. 1983.
67. Uhde I., Toman A., Gross I., Schwanstecher C., Schwanstecher M. Identification of the potassium channel opener site on sulfonylurea receptors. *J. Biol. Chem.* 274: 28079–28082. 1999.
68. Aguilar-Bryan L., Bryan J. Molecular biology of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Endocr. Rev.* 20: 101–135. 1999.
69. Jones P.M., George A.M. The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. *Cell Mol. Life Sci.* 61: 682–699. 2004.
70. Flagg T.P., Kurata H.T., Masia R., Caputa G., Magnusson M.A., Lefer D.J., Coetzee W.A., Nichols C.G. Differential structure of atrial and ventricular KATP: atrial KATP channels require SUR1. *Circ. Res.* 103: 1458–1465. 2008.
71. Beech D.J., Zhang H., Nakao K., Bolton T.B. Single channel and whole-cell K<sup>+</sup>-currents evoked by levcromakalim in smooth muscle cells from the rabbit portal vein. *British J. Pharmacol.* 110: 583–590. 1993.
72. Nichols C.G., Lederer W.J. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system. *American J. Physiol.* 261: 1675–1686. 1991.
73. Yellon D.M., Downey J.M. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol. Rev.* 83: 1113–1151. 2003.
74. Inoue I., Nagase H., Kishi K., Higuti T. ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature*. 352: 244–247. 1991.
75. Paucek P., Mironova G., Mahdi F., Beavis A.D., Woldegiorgis G., Garlid K.D. Reconstitution and partial purification of the glibenclamide-sensitive, ATP-dependent K<sup>+</sup> channel from rat liver and beef heart mitochondria. *J. Biol. Chem.* 267: 26062–26069. 1992.
76. Paucek P., Yarov-Yarovoy V., Sun X., Garlid K.D. Inhibition of the mitochondrial KATP channel by long-chain acyl-CoA esters and activation by guanine nucleotides. *J. Biol. Chem.* 271: 32084–32088. 1996.
77. Mironova G.D., Negoda A.E., Marinov B.S., Paucek P., Costa A.D., Grigoriev S.M., Skarga Y.Y., Garlid K.D. Functional distinctions between the mitochondrial ATP-dependent K<sup>+</sup> channel (mitoKATP) and its inward rectifier subunit (mitoKIR). *J. Biol. Chem.* 279: 32562–32568. 2004.

78. Singh H., Hudman D., Lawrence C.L., Rainbow R.D., Lodwick D., Norman R.I. Distribution of Kir6.0 and SUR2 ATP-sensitive potassium channel subunits in isolated ventricular myocytes. *J. Mol. Cell Cardiol.* 35: 445–459. 2003.
79. Миронова Г.Д., Маслова Г.М., Федотчева Н.И., Миронов Г.П. Участие митохондриальных систем транспорта в термогенезе теплокровных животных. // В сб.: Эволюционные аспекты гипобии и зимней спячки. Л.: Наука. 64–68. 1986. [Mironova G.D., Maslova G.M., Fedotcheva N.I., Mironov G.P. Uchastie mitokhondrialnykh sistem transporta v termogeneze teplokrovnykh zhivotnykh [Participation of mitochondrial transport systems in thermogenesis of homoiothermal animals.]. V sb.: Evolyucionnye aspekty gipobioza i zimnej spyachki. [Evolutionary aspects of a hypobiosis and winter sleep] L.: Nauka. 64–68. 1986.].
80. Миронова Г.Д., Качаева Е.В., Балина М.И., Крылова И.Б., Родионова О.М., Евдокимова Н.Р., Сапронов Н.С. Митохондриальный АТФ-чувствительный калиевый канал. II. Роль канала в защите сердца от ишемии. *Вестн. Росс. АМН.* 2:34–43. 2007. [Mironova G.D., Kachayeva E.V., Balina M.I., Krylov I.B., Rodionova O.M., Evdokimova N.R., Sapronov N.S. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channel. II. A role of the channel in protection of heart against ischemia. *Vestn. Ross. AMN.* 2: 34–43. 2007.]
81. Шигаева М.И. Функционирование митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала при различных физиологических и патологических состояниях. Автореф. канд. дисс. Пушкино, 2010. [Shigaeva M.I. Funkcionirovanie mitokhondrial'nogo ATF-zavisimogo kalievogo kanala pri razlichnykh fiziologicheskikh i patologicheskikh sostoyaniyakh [Functioning of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel at various physiological and pathological states]. Avtoref. kand.diss. Pushchino, 2010].

## Molecular Basis of Cardioprotection in Ischemic Heart Disease

I.V. Shemarova<sup>a,#</sup> and V. P. Nesterov<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

<sup>#</sup>e-mail: irina-shemarova@yandex.ru

The review addresses the mechanisms of adaptation of cardiomyocytes to hypoxia and ischemia and analyzes the signaling mechanisms responsible for expression of metabolic genes and the formation of tolerance to hypoxia and ischemia with a special focus on the role of HIF-1 $\alpha$ , succinate, and ATP-dependent K<sup>+</sup>-channels (K<sub>ATP</sub>-channels) in the regulation of adaptive responses of cardiomyocytes during myocardial ischemia.

**Keywords:** cardioprotection, hypoxia, ischemia, preconditioning, HIF-1 $\alpha$ , K<sub>ATP</sub>-channels