

УДК 616.12-009.72:612.014.1

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ ПРИ ИШЕМИИ^{1,2}Шурыгина И.А., ^{1,2}Шурыгин М.Г.¹ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск,
e-mail: irinashurygina@gmail.com;²ФГБУН Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск,
e-mail: mshurygin@gmail.com

В представленном обзоре отражены современные данные об активации сигнальных внутриклеточных каскадов при ишемии. Показано, что адаптация ткани к ишемии сопровождается активацией ряда тирозинкиназ. Представлены данные об изменении активности ERK, JNK и p38 MAPK при ишемическом повреждении. Описано, что некоторые представители семейства MAPK (MAPK1, 3, 7, MAPK групп p38, JNK) могут быть активированы при механическом стрессе, а также при снижении pH, воздействии факторов роста, ряда гормонов, реактивных форм кислорода. Представлено, что длительная активация p38 MAPK наблюдается при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, таких как инфаркт миокарда, гипертрофия, сердечная недостаточность. Проанализированы перспективы и попытки коррекции активности сигнальных каскадов для улучшения исходов заболеваний, сопровождающихся ишемией.

Ключевые слова: MAP-киназа, ишемия, фактор роста**ALTERATION OF INTRACELLULAR SIGNAL CASCADES ACTIVITY AT ISCHEMIA**^{1,2}Shurygina I.A., ^{1,2}Shurygin M.G.¹Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, e-mail: irinashurygina@gmail.com;²Irkutsk Scientific Center of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk,
e-mail: mshurygin@gmail.com

This review article reflects present-day data on activation of intracellular signal cascades in the condition of ischemia. It has been demonstrated, that tissue adaptation for ischemia is accompanied by activation of some tyrosine kinases. The article presents information about changing in activity of ERK, JNK and p38 MAPK at ischemic injury. As it is described, some representatives of MAPK class (MAPK1, 3, 7, MAPK of p38 and JNK groups) may be activated in mechanical stress, reduced pH, and under the influence of growth factors, some hormones and reactive oxygen species. Long-term activation of p38 MAPK is observed in various cardiovascular diseases, such as myocardium infarction, hypertrophy, and cardiac failure. The authors of the article have analyzed the possibilities and attempts to correct the activity of signal cascades for improvement of outcomes of disorders accompanied by ischemia.

Keywords: MAP kinase, ischemia, growth factor

Большинство изменений, развивающихся как вследствие ишемического повреждения, так и в качестве адаптивного ответа на него, замыкаются на достаточно узкий спектр внутриклеточных путей реализации ответа. Показано, что адаптация ткани к ишемии сопровождается активацией ряда тирозинкиназ [13, 28, 50]. Рецепторные тирозинкиназы играют важную роль в редокс-сигналикации путем аутофосфорилирования их собственных тирозинов внутри клеток. Фосфорилирование тирозинкиназ связано с активацией фосфолипаз С (PLC) и D (PLD), приводящих к активации множества киназ, включая фосфокиназу С (PKC) и митоген-активирующую протеинкиназу (MAPK).

MAP-киназы – это серин/треонин-специфичные протеин-киназы, которые в ответ на внеклеточные стимулы (митогены) ре-

гулируют клеточную активность (экспрессия генов, митоз, дифференциация, выживание клеток, апоптоз) [33]. В настоящее время наиболее хорошо изучены 3 группы MAP-киназ: киназы, регулируемые внеклеточными сигналами (ERK1 = MAPK3 и ERK2 = MAPK1); киназы N-концевой части фактора транскрипции Jun (c-Jun N-terminal kinases) (JNK), выполняющие роль стресс-активируемых протеинкиназ (stress-activated protein kinases) (SAPK); группа MAP-киназ p38 (MAPK 11-14).

MAPK1 и MAPK3 активируются факторами роста, гормонами и нейротрансмиттерами. Оба белка регулируются путем двойного фосфорилирования специфического тирозина и треониновых остатков, связанных с мотивом Thr-Glu-Tyr. В ответ на активацию обе MAP-киназы фосфорилируют серин и треонин по ходу транскрипции.

Регуляторы MAP-киназ при транскрипции в обратном направлении включают MAP-киназу-киназу (МЕК), МЕК киназу и Raf-1. Под контролем семейства JNK, включающего MAPK8, MAPK9 и MAPK10, находятся ингибирование клеточного роста и воспалительные реакции [19, 20, 22, 23, 43].

Описано, что некоторые представители семейства MAPK (MAPK1, 3, 7, MAPK групп p38, JNK) могут быть активированы при механическом стрессе, а также при снижении pH, воздействии факторов роста, ряда гормонов, реактивных форм кислорода [26, 45].

Показано, что MAPK может быть активирована как в результате активного мышечного сокращения [36], так и после пассивного растяжения [27]. Механические напряжения, например, в перинфарктной зоне, действуют через потенциальные механорецепторы (интегрины, цитоскелетные и сарколеммаотные протеины) и являются триггером для многих внутриклеточных путей передачи сигнала — MAP-киназ, JAK, активатора транскрипции STAT, кальцийневрин-зависимого пути. Активация по этим путям приводит к активации сходных последующих факторов транскрипции, таких как NF- κ B и AP-1, что требуется для индукции основных генов, ответственных за синтез цитокинов, включая TNF- α и IL-6 [12].

В процессе функционирования внутриклеточных сигнальных механизмов необходимы один или несколько участков MAP-киназного каскада. Среди трех различных семейств MAP-киназ известны два, регулируемые внеклеточным стрессом: активируемая стрессом протеинкиназа (SAPK), известная также как JNK, и p38 MAP-киназа [8, 25, 37, 38, 39]. Каждая из киназ выполняет в клетке различные функции, так как они имеют разные клеточные мишени и участвуют в механизмах передачи сигнала. По-видимому, активация индуцируемых стрессом протеинкиназ необходима для адаптации тканей к ишемии [17]. Раздельные исследования миогенного и ангиогенного эффектов ишемии *in vitro* на миоцитах и эндотелиальных клетках выявили, что миоциты экспрессируют рецепторы HMGB1 RAGE и TLR4, в процессе дифференцировки эта экспрессия уменьшается [2]. HMGB1 секретируется дифференцированными миоцитами и усиливает хемотаксическую активность миогенных клеток. Этот эффект частично связан с RAGE и ингибируется при введении V α A. HMGB1 стимулирует образование тубулярных структур эндотелиоцитами посредством активации путей трансдукции,

связанных с extracellular signal-regulated kinase (ERK) и JNK [14].

Известно, что длительная активация p38 MAPK наблюдается при различных кардиоваскулярных заболеваниях, таких как инфаркт миокарда, гипертрофия, сердечная недостаточность [10, 11]. В ряде работ изучено изменение MAPK каскадов при развитии инфаркта миокарда. В частности, установлено, что через несколько минут после развития экспериментального инфаркта миокарда в зоне ишемического повреждения, а также в неповрежденных частях левого желудочка активируются ERK1/2, JNK1/2 и p38 α MAPK [35, 41, 46, 48]. В неповрежденной части миокарда p38 MAPK последовательно активируется в течение нескольких недель после развития инфаркта миокарда [29, 34, 42].

При использовании в качестве экспериментальных животных трансгенных мышей с кардиоспецифической экспрессией негативной формы p38 α MAPK установлено, что при моделировании инфаркта миокарда у данных животных на 7 сутки сокращается размер формирующегося рубца, снижается апоптоз кардиомиоцитов в перинфарктной зоне по сравнению с немодифицированными животными, сокращается конечно-систолический объем левого желудочка [35]. Как один из возможных механизмов редукции патологического ремоделирования у трансгенных животных авторы называют снижение деамидирования антиапоптотического белка Bcl-XL через 2 часа после моделирования инфаркта миокарда. При этом избыточная экспрессия DN-p38 α в ткани сердца трансгенных мышей сопровождается повышенной экспрессией Bcl-2 после ишемии/реперфузии [21]. Эти результаты показывают, что активация p38 MAPK способствует патологическому ремоделированию за счет снижения активности или экспрессии антиапоптотических членов семьи Bcl-XL и Bcl-2 [30].

При изучении молекулярной биологии тканевых изменений при инфаркте миокарда показано большое влияние активации тирозинкиназных рецепторов, опосредующих сигналы от факторов роста, на течение различных процессов в миокарде при его ишемическом повреждении. Тот факт, что передача данных сигналов на факторы транскрипции осуществляется через каскады митоген активируемых протеинкиназ, может свидетельствовать о потенциальной возможности влиять на течение постинфарктного периода путем модификации активности данных каскадов [1, 4, 5, 6].

О такой возможности свидетельствуют и исследования модуляции активности

МАРК каскадов в процессе заживления ран, при которых удавалось значимо изменить механические свойства вовлеченных в репаративный процесс участков тканей в области кожно-мышечной раны [7, 9, 37, 38]. Действительно, в последние годы в ряде исследований применялись блокаторы МАРК для влияния на процесс постинфарктного ремоделирования. В частности, при применении блокатора р38 α и р38 β SB203580 при экспериментальном инфаркте миокарда непосредственно после моделирования патологического процесса в течение 1 или 6 недель приводило к снижению фиброза миокарда, снижению уровней TNF- α и коллагена I типа, увеличению сократительной функции левого желудочка [47]. Также установлено, обработка культуры взрослых кардиомиоцитов крысы FGF1 и SB203580 индуцирует митоз [16].

При применении на экспериментальной модели инфаркта миокарда интраперитонеального введения только SB203580 каждые 3 дня в течение месяца или сочетания SB203580 и однократного введения FGF1 интрамиокардиально в пограничную зону непосредственно после лигирования коронарной артерии отмечены признаки активации митоза кардиомиоцитов (повышение уровня циклина A) в зоне инфаркта и перинфарктной зоне, снижение выраженности патологического ремоделирования (увеличение фракции выброса, снижение объема рубца, уменьшение истончения сердечной стенки в зоне инфаркта) в течение 2 недель [15]. Через 3 месяца положительные эффекты частично сохранялись, они были более выраженными у животных, получавших FGF2, возможно, за счет стимуляции ангиогенеза при помощи FGF2 [3]. Применение ингибитора ERK-МАРК PD98059 усиливает апоптоз кардиомиоцитов, активность каспазы-3 и размер зоны инфаркта [49].

Таким образом, активация р38 МАРК и JNK 1/2 каскадов при ремоделировании сердца после инфаркта миокарда способствует развитию фиброза в области инфаркта миокарда и перинфарктной зоне, апоптозу в пограничной зоне инфаркта и расширению зоны инфаркта. Тем не менее, не все исследования подтверждают эту модель ремоделирования сердца [18, 29].

Использование фармакологических агентов, способных ингибировать р38 МАРК или JNK1 / 2 может уменьшить патологическое ремоделирование сердца после инфаркта миокарда [30]. Так, Liu Y.H. et al. [24] показали, что применение блокатора р38 SC-409 в дозе 30 mg/kg/день в течение 12 недель при экспериментальном инфаркте

миокарда с использованием модели лигирования левой передней нисходящей артерии у мышей C57BL/6J значительно повышает фракцию выброса левого желудочка, снижает уровень коллагенообразования в зоне постинфарктного кардиосклероза. Показано, что внутривенное введение блокатора р38 МАРК SB203580 перед эпизодом ишемии на модели 30-минутной окклюзии левой передней нисходящей коронарной артерии у крыс линии Wistar снижает размер зоны инфаркта, улучшает функцию левого желудочка [40].

Wei J. et al. [44] показали, что введение ингибитора JNK-1, либо блокада гена JNK-1 у трансгенных мышей при длительности ишемии 5 минут приводит к массивному апоптозу, расширению зоны ишемического повреждения и негативному ремоделированию миокарда. Напротив, при ишемии в течение 20 минут блокада JNK-1 обладает кардиопротективным эффектом.

Во второй фазе клинических исследований показано, что селективный ингибитор р38 МАРК под коммерческим названием losmapimod при остром коронарном синдроме улучшает исход заболевания [31]. В настоящее время стартовала 3 фаза клинических исследований по применению препарата losmapimod (LATITUDE-TIMI 60, NCT02145468) при остром коронарном синдроме [10]. В исследование планируется включить 25500 пациентов с инфарктом миокарда. Планируется назначение препарата losmapimod по 7.5 мг 2 раза в сутки течение 12 и 24 недель [32].

Учитывая значительную роль активации сигнальных каскадов при развитии патологических состояний, в частности ишемии, попытки фармакологической коррекции активации следует рассматривать как новое перспективное направление лечения широкого круга заболеваний, в патогенезе развития которых ключевым звеном является ишемия.

Список литературы

1. Дремина Н.Н., Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А. Изменение микроциркуляторного компонента миокарда под воздействием фактора роста эндотелия сосудов в постинфарктный период // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2008. – № 4. – С. 73–75.
2. Шурыгин М.Г., Болбат А.В., Шурыгина И.А. Миосателлиты как источник регенерации мышечной ткани // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-8. – С. 1741-1746.
3. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А. Фактор роста фибробластов как стимулятор ангиогенеза при инфаркте миокарда // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2010. – Т. 30, № 6. – С. 89-92.
4. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Влияние основного фибробластического фактора роста на выраженность цитолиза при экспериментальном инфаркте ми-

- окарда // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2008. – № 6. – С. 58–60.
5. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на выраженность цитолиза при экспериментальном инфаркте миокарда // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2008. – № 1. – С. 68–71.
6. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на уровень коллагенообразования в процессе развития постинфарктного кардиосклероза // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 78, № 3. – С. 53–55.
7. Шурыгина И.А. Использование блокатора p38 митоген-активируемой протеинкиназы для управления процессом формирования послеоперационного рубца // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2014. – № 3. – С. 41–45.
8. Шурыгина И.А. Роль MAP-киназных механизмов в регуляции клеточного роста (обзор литературы) // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – Т. 89, № 6. – С. 36–40.
9. Шурыгина И.А. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 110, № 3. – С. 8–12.
10. Arabacılar P., Marber M. The case for inhibiting p38 mitogen-activated protein kinase in heart failure // Front. Pharmacol. – 2015. – Vol. 6, n 102.
11. Barajas-Espinosa A. Modulation of p38 kinase by DUSP4 is important in regulating cardiovascular function under oxidative stress // Free Radic. Biol. Med. – 2015. – Vol. 89. – P. 170–181.
12. Beg A.A., Baltimore D. An essential role for NF-kappaB in preventing TNF-alpha-induced cell death // Science. – 1996. – Vol. 274. – P. 782–784.
13. Cheng Y. Potential mechanism for endothelial progenitor cell therapy in acute myocardial infarction: Activation of VEGF – PI3K/Akt-eNOS pathway // Ann. Clin. Lab. Sci. – 2013. – Vol. 43, № 4. – P. 395–401.
14. De Mori R. Multiple effects of high mobility group box protein 1 in skeletal muscle regeneration // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2007. – Vol. 27, № 11. – P. 2377–2383.
15. Engel F.B. FGF1/p38 MAP kinase inhibitor therapy induces cardiomyocyte mitosis, reduces scarring, and rescues function after myocardial infarction // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2006. – Vol. 103. – P. 15546–15551.
16. Engel F.B. p38 MAP kinase inhibition enables proliferation of adult mammalian cardiomyocytes // Genes Dev. – 2005. – Vol. 19. – P. 1175–1187.
17. Flacke J.P. Acidic preconditioning protects endothelial cells against apoptosis through p38 – and Akt-dependent Bcl-xL overexpression // Apoptosis. – 2009. – Vol. 14, № 1. – P. 90–96.
18. Frantz S. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in cardiac remodeling // Br. J. Pharmacol. – 2007. – Vol. 150. – P. 130–135.
19. Hommes D.W., Peppelenbosch M.P., van Deventer S.J. Mitogen activated protein (MAP) kinase signal transduction pathways and novel anti-inflammatory targets // Gut. – 2003. – Vol. 52, № 1. – P. 144–151.
20. Goberdhan D.C., Wilson C. JNK, cytoskeletal regulator and stress response kinase? A Drosophila perspective // Bioessays. – 1998. – Vol. 20, № 12. – P. 1009–1019.
21. Kaiser R.A. Targeted inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase antagonizes cardiac injury and cell death following ischemia-reperfusion in vivo // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279. – P. 15524–15530.
22. Lee S.M. Stimulation of Fas (CD95) induces production of pro-inflammatory mediators through ERK/JNK-dependent activation of NF-kB in THP-1 cells // Cell Immunol. – 2011. – Vol. 271, № 1. – P. 157–162.
23. Li M. NF-kB and JNK/MAPK activation mediates the production of major macrophage – or dendritic cell-recruiting chemokine in human first trimester decidual cells in response to proinflammatory stimuli // J Clin Endocrinol Metab. – 2011. – Vol. 96, № 8. – P. 2502–2511.
24. Liu Y.H. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase protects the heart against cardiac remodeling in mice with heart failure resulting from myocardial infarction // J. Card. Fail. – 2005. – Vol. 11, № 1. – P. 74–81.
25. Lochner A. Protection of the ischaemic heart: investigations into the phenomenon of ischaemic preconditioning // Cardiovasc. J. Afr. – 2009. – Vol. 20, № 1. – P. 43–51.
26. Loufrani L. Stretch induces mitogen-activated protein kinase activation and myogenic tone through 2 distinct pathways // Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol. – 1999. – Vol. 19. – P. 2878–2883.
27. Martineau L.C., Gardiner P.F. Insight into skeletal muscle mechanotransduction: MAPK activation is quantitatively related to tension // J. Appl. Physiol. – 2001. – Vol. 91. – P. 693–702.
28. Maslov L.N. Activation of peripheral delta2 opioid receptors increases cardiac tolerance to ischemia/reperfusion injury. Involvement of protein kinase C, NO-synthase, KATP channels and the autonomic nervous system // Life Sci. – 2009. – Vol. 84, № 19–20. – P. 657–663.
29. Matsumoto-Ida M. Activation of TGF-beta1-TAK1-p38 MAPK pathway in spared cardiomyocytes is involved in left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2006. – Vol. 290. – P. 709–715.
30. Muslin A.J. MAPK signalling in cardiovascular health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets // Clin. Sci. (Lond). – 2008. – Vol. 115, № 7. – P. 203–218.
31. Newby L.K. Losmapimod, a novel p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor, in non-ST-segment elevation myocardial infarction: a randomised phase 2 trial // Lancet. – 2014. – Vol. 384, № 9949. – P. 1187–1195.
32. O'Donoghue M.L. Rationale and design of the Losmapimod To Inhibit p38 MAP kinase as a Therapeutic target and modify outcomes after an acute coronary syndrome trial // Am. Heart J. – 2015. – Vol. 169, № 5. – P. 622–630.
33. Pearson G. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions // Endocr. Rev. – 2001. – Vol. 22, № 2. – P. 153–183.
34. Qin F., Liang M.C., Liang C.S. Progressive left ventricular remodeling, myocyte apoptosis, and protein signaling cascades after myocardial infarction in rabbits // Biochim. Biophys. Acta. – 2005. – Vol. 1740. – P. 499–513.
35. Ren J. Role of p38alpha MAPK in cardiac apoptosis and remodeling after myocardial infarction // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2005. – Vol. 38. – P. 617–623.
36. Ryder J.W. Effect of contraction on mitogen-activated protein kinase signal transduction in skeletal muscle. Involvement of the mitogen – and stress-activated protein kinase // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275. – P. 1457–1462.
37. Shurygina I.A. Application of mitogen-activated protein kinase inhibitor SP 600125 for wound healing control // Journal of Regenerative Medicine & Tissue Engineering. – 2013. – Vol. 2.
38. Shurygina I.A. Mechanisms of connective tissue formation and blocks of mitogen activated protein kinase // Frontiers of Chemical Science and Engineering. – 2012. – Vol. 6, № 2. – P. 232–237.
39. Sucher R. Intracellular signaling pathways control mitochondrial events associated with the development of ischemia/ reperfusion-associated damage // Transpl. Int. – 2009. – Vol. 22, № 9. – P. 922–930.
40. Surinkaew S. Inhibition of p38 MAPK during ischemia, but not reperfusion, effectively attenuates fatal arrhythmia in ischemia/reperfusion heart // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2013. – Vol. 61, № 2. – P. 133–141.

41. Tang K. Role of apoptosis signal-regulating kinase-1-c-Jun NH2-terminal kinase-p38 signaling in voltage-gated K⁺ channel remodeling of the failing heart: regulation by thioredoxin // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2011. – Vol. 14, № 1. – P. 25–35.
42. Tenhunen O. p38 Kinase rescues failing myocardium after myocardial infarction: evidence for angiogenic and anti-apoptotic mechanisms // *FASEB J.* – 2006. – Vol. 20. – P. 1907–1909.
43. Tsao P.N. Lipopolysaccharide-induced Notch signaling activation through JNK-dependent pathway regulates inflammatory response // *J Biomed Sci.* – 2011. – Vol. 18. – P. 56.
44. Wei J. c-Jun N-terminal kinase (JNK-1) confers protection against brief but not extended ischemia during acute myocardial infarction // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286, № 16. – P. 13995–14006.
45. Wretman C. Effects of concentric and eccentric contractions on phosphorylation of MAPK-erk1+2 and MAPK-p38 in isolated rat skeletal muscle // *J. Physiol.* – 2001. – Vol. 535. – P. 155–164.
46. Yeh C.C. Distinctive ERK and p38 signaling in remote and infarcted myocardium during post-MI remodeling in the mouse // *J. Cell. Biochem.* – 2010. – Vol. 109, № 6. – P. 1185–1191.
47. Yin H. p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Inhibition Decreases TNF alpha Secretion and Protects Against Left Ventricular Remodeling in Rats with Myocardial Ischemia // *Inflammation.* – 2008. – Vol. 31, № 2. – P. 65–73.
48. Yoshida K. Activation of mitogen-activated protein kinases in the non-ischemic myocardium of an acute myocardial infarction in rats // *Jpn. Circ. J.* – 2001. – Vol. 65. – P. 808–814.
49. Zhang J. ERK-MAPK signaling opposes rho-kinase to reduce cardiomyocyte apoptosis in heart ischemic preconditioning // *Mol. Med.* – 2010. – Vol. 16, № 7-8. – P. 307–315.
50. Zhang J. Inhibition of the activity of Rho-kinase reduces cardiomyocyte apoptosis in heart ischemia/reperfusion via suppressing JNK-mediated AIF translocation // *Clin. Chim. Acta.* – 2009. – Vol. 401, № 1-2. – P. 76–80.