

УДК 612.172

*ЦИРКИН Виктор Иванович, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии Казанского государственного медицинского университета. Автор 450 научных публикаций, в т. ч. 17 монографий, 5 учебников и 15 учебных пособий*

*КОРОТАЕВА Юлия Владимировна, аспирант кафедры биологии естественно-географического факультета Вятского государственного гуманитарного университета. Автор 13 научных публикаций*

## **УЧАСТИЕ ПРОТЕИНКИНАЗ А, В, С И D В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ КАРДИОМИОЦИТОВ (Обзор. Сообщение II)**

В данной части обзора рассматривается роль протеинкиназы D (ПКD) и протеинкиназы A (ПКА) в регуляции сократимости миокарда за счет фосфорилирования сердечного тропонина I (сTnI) и миозин-связывающего белка C (сМуВР-С). В частности, сообщается, что протеинкиназа D (ПКD), активность которой возрастает при взаимодействии катехоламинов с альфа<sub>1</sub>-адренорецепторами (АР), фосфорилирует тропонин I. Это снижает способность тропонина I изменять свою конформацию под влиянием тропонина С и тем самым уменьшает сократимость кардиомиоцитов, хотя скорость их расслабления возрастает. Протеинкиназа А, которая активируется при взаимодействии катехоламинов с бета<sub>1</sub>- и бета<sub>2</sub>-АР (при Gs-сигналинге), противодействует снижению сократимости миокарда под влиянием ПКD. Сердечный миозин-связывающий белок С (сМуВР-С), как известно, локализуется в области перекрытия толстых и тонких нитей, т. е. в С-зоне А-диска. Его фосфорилирование, т. е. активация, происходит с участием ПКА (по серину 273, 282 и 302), что наблюдается при взаимодействии катехоламинов с бета<sub>1</sub>- и бета<sub>2</sub>-АР, а также при участии ПКD (по серину 302), что наблюдается при взаимодействии катехоламинов с альфа<sub>1</sub>-АР. По одним данным, активированный сМуВР-С повышает скорость сокращения и расслабления и увеличивает сократимость, а по другим данным, он уменьшает сократимость миокарда, но ускоряет процесс расслабления. Противоречие объясняется тем, что эффект сМуВР-С зависит от изоформ миозина (альфа, или V1; бета, или V3), распределение которых в сердце определяется регионом, слоем миокарда и видовой принадлежностью. Показано, что при мутациях гена сМуВР-С или ПКD возникает гипертрофическая кардиомиопатия, являющаяся одной из причин внезапной смерти среди молодых спортсменов. Обзор указывает на актуальность дальнейшей разработки вопросов о роли протеинкиназ А, В, С и D, тропонина, миозина и сМуВР-С в деятельности сердца человека и животных.

**Ключевые слова:** протеинкиназа А, протеинкиназа В, протеинкиназа С, протеинкиназа D, кардиомиоциты, сократимость, катехоламины.

*Фосфорилирование тропонина I с участием ПКД.* Тропонин, как известно [1, 2], представляет собой комплекс трех белков (тропонина Т, тропонина I и тропонина С), который расположен в кардиомиоцитах на актиновых нитях с интервалом в 40 нм. Тропонин связывается с тропомиозиновой нитью, фиксируя ее в таком положении на актиновой нити, при котором миозиновые мостики не способны связываться с актиновой нитью и производить скольжение, т. е. сокращение кардиомиоцита. Известно [1, 2], что каждый вид тропонина выполняет определенную функцию. В частности, тропонин Т (TnT) предназначен для связи с тропомиозином. В отсутствие ионов Са тропонин Т связывается с тропомиозином, образуя с ним тропонин-тропомиозиновый комплекс, который в свою очередь препятствует взаимодействию миозиновых мостиков с актиновыми нитями, т. е. препятствует акту сокращения [2]. Попутно отметим, что в клинической практике определение содержания тропонина Т используется с целью определения наличия повреждения кардиомиоцитов, например при инфаркте миокарда, коронарной недостаточности, дилатационной кардиомиопатии [3–5]. Так, опыты на миокарде левого желудочка хомяков [3] показали, что при создании в эксперименте дилатационной кардиомиопатии происходит развитие оксидативного стресса, который сопровождается повышением уровня норадреналина и содержания в крови сердечного тропонина Т (как отражение повреждения миокарда под влиянием норадреналина), уменьшением эффективности активации бета-АР, судя по реакции со стороны сердца на введение изопротеренола, и снижением активности аденилатциклазы, хотя число бета-АР не было изменено. Одна группа исследователей [4], оценивая ежедневно в отделении интенсивной терапии 12-канальную ЭКГ и уровень сердечного тропонина у пациентов, а затем прослеживая судьбу этих пациентов на протяжении двух лет, показала, что чем длительнее у пациентов была ишемия миокарда, тем выше уровень тропонина Т и тем выше риск смерти

у пациентов с коронарной недостаточностью, в т. ч. протекающей «молчаливо», т. е. без левого синдрома. Опыты на миокарде левого желудочка [5] показали, что сTnT является специфичным и чувствительным маркером повреждения миокарда. Было установлено, что чем выше тяжесть сердечной недостаточности, судя по фракции выброса левого желудочка, тем выше содержание кардиального сTnT, которое коррелировало с уровнем норадреналина и другими показателями. Авторы полагают, что именно активация симпатической системы при хронической сердечной недостаточности вызывает повреждение миокарда, отражением чего является высокий уровень сTnT.

Тропонин С, являясь аналогом кальмодулина, предназначен для связи ионов Са при достижении ими определенной концентрации. Связывание ионов Са вызывает конформационные изменения в тропонине I, что приводит к инактивации тропонин-тропомиозинового комплекса, а тем самым – к индукции сокращения [2].

Тропонин I, согласно данным литературы [6–10], при допороговых концентрациях ионов Са «разрешает» тропонину Т связаться с тропомиозином и тем самым препятствует активации актомиозиновой Mg-АТФазы, т. е. акту сокращения. Одновременно тропонин I предназначен и для связывания тропонинового комплекса с актиновой нитью. Иначе говоря, именно тропонин I является ингибитором процесса скольжения. В присутствии ионов Са под влиянием тропонина С происходит изменение конформации тропонина I, в результате чего тропонин I прекращает фиксировать тропонин Т на актиновой нити, что создает условия для взаимодействия миозиновых мостиков с актиновыми нитями, т. е. для активации актомиозиновой Mg-АТФазы и для совершения акта сокращения.

Оказалось, что протеинкиназа D (ПКД) может фосфорилировать тропонин I и тем самым снижать способность тропонина I изменять свою конформацию под влиянием тропонина С, а следовательно, изменять дислокацию тропо-

миозиновой нити на актиновой нити и тем самым уменьшать сократимость кардиомиоцитов [9; 11–14] и в то же время повышать скорость расслабления кардиомиоцитов [12]. Полагают, что тропонин I фосфорилируется с участием ПКД по остаткам серина в положении 20 [15], 22 [11], 23 [12], 72 [15] и по остаткам треонина в положении 138 [15] и 162 [15]. Следует отметить, что первоначально считалось, что фосфорилирование тропонина I осуществляется с участием киназы фосфорилазы b [15] либо с участием ПКА [8, 12], однако в последующем авторы пришли к представлению о том, что фосфорилирование тропонина I осуществляется с участием ПКД [11–14], а ПКА, наоборот, препятствует этому действию [9, 16].

Таким образом, достаточно важным является вопрос о причастности катехоламинов к фосфорилированию тропонина I, в т. ч. с участием ПКД. Сведения в этом отношении неоднозначны [6–9, 12–14, 17–19]. В частности, опыты с миокардом кролика [15] показали, что адреналин ( $4 \times 10^{-6}$  М) повышает фосфорилирование тропонина, но это происходит под влиянием киназы фосфорилазы b. По мнению [12], фосфорилирование тропонина I в миоцитах предсердий и желудочков сердца может возникать при активации бета<sub>1</sub>-АР и бета<sub>2</sub>-АР, что, по мнению авторов, обусловлено активацией ПКА и проявляется в ускорении процесса расслабления. По мнению [8], фосфорилирование тропонина I в кардиомиоцитах левого желудочка свиньи может возрастать при активации бета<sub>1</sub>-АР добутамином, что объясняется авторами активацией ПКА. По мнению [13], при активации адренорецепторов (вероятнее всего, альфа<sub>1</sub>-АР) повышается фосфорилирование тропонина I, что объясняется последовательной активацией ПКС и ПКД. Опыты с неонатальными кардиомиоцитами [18] показали, что норадреналин как агонист альфа<sub>1</sub>-АР избирательно активирует ПКД1, которая фосфорилирует тропонин I. Исследователи [14] установили, что при активации альфа<sub>1</sub>-АР происходит активация ПКД, что повышает фосфорилирование тропонина I. В то же время другая группа исследователей [9]

отрицает возможность фосфорилирования тропонина I при активации бета<sub>1</sub>-АР и бета<sub>2</sub>-АР, т. к. при этом повышается активность ПКА, которая препятствует способности ПКД вызывать фосфорилирование тропонина I. Приведем более подробные сведения о фосфорилировании тропонина I при активации ПКД и других протеинкиназ, возникающей при действии катехоламинов. Так, опыты с миокардом кролика [15] показали возможность фосфорилирования тропонина I под влиянием киназы фосфорилазы b, при котором фосфорилирование происходит по серину 20, серину 72, треонину 138 и треонину 162. Они также показали, что адреналин ( $4 \times 10^{-6}$  М) повышает фосфорилирование тропонина по серину 20, но не влияет на фосфорилирование серина 72 и треонина 138. Опыты с культурой кардиомиоцитов крыс при использовании аденовирусного переноса генов [11] показали, что ПКД фосфорилирует тропонин I в положении серин 22 и серин 23 и снижает чувствительность миофилламентов к ионам Са. Опыты с биоптатами предсердий и желудочков сердца [12] подтвердили, что при сердечной недостаточности и в норме при активации бета<sub>1</sub>-АР и бета<sub>2</sub>-АР наблюдается положительный инотропный эффект и положительный луситропный эффект, а также происходит повышение фосфорилирования тропонина I и фосфоламбана. По мнению авторов, это повышение индуцировано ПКА. Исследователи [13] установили, что при действии агонистов адренорецепторов (вероятнее всего, при активации альфа<sub>1</sub>-АР) повышается фосфорилирование тропонина I, что объясняется последовательной активацией ПКС и ПКД. Кроме того, показано [9], что у культивируемых кардиомиоцитов желудочков взрослых крыс активация ПКД под влиянием эндотелина-1 происходит с участием протеинкиназы С<sub>эпсилон</sub>, но этому препятствует ПКА. Косвенно эти данные означают, что активация бета<sub>1</sub>-АР и бета<sub>2</sub>-АР, при которой возрастает активность ПКА, будет препятствовать фосфорилированию тропонина I под влиянием ПКД. Опыты на миофибриллах желудочков крысы [19] показали, что при акти-

вация бета-АР происходит активация ПКА, которая фосфорилирует тропонин I, что ослабляет взаимодействие тропонина С и тропонина I, т. е. повышает силу сокращения и одновременно ускоряет процесс расслабления.

*Фосфорилирование сердечного миозин-связывающего белка С с участием ПКД.* Известно, что миозиновые нити кардиомиоцитов содержат так называемый сердечный миозин-связывающий белок С (cardiac myosin binding protein-С, или сМуВР-С) [7, 17, 19–26]. Он был открыт в начале 1970-х годов с помощью иммуногистохимических методов в С-зоне А-диска, т. е. в области перекрытия толстых и тонких нитей кардиомиоцита [20, 21]. Первоначально считалось, что сМуВР-С выполняет структурную роль в организации толстых и тонких филаментов в саркомере [20, 21]. Однако в последующем было установлено, что сМуВР-С участвует и в регуляции сокращений кардиомиоцитов, для чего он должен первоначально фосфорилироваться [6, 7, 17, 21, 23–26]. Однако сведения о механизмах фосфорилирования сМуВР-С и о его роли в деятельности сердца в целом неоднозначны. Первоначально считалось, что активация сМуВР-С, т. е. его фосфорилирование, происходит с участием ПКА [6, 7, 17, 19, 25], однако в последующем появились сообщения о том, что фосфорилирование осуществляется и с участием ПКД [7].

При активации сМуВР-С с участием ПКА, что происходит при взаимодействии катехоламинов с бета<sub>1</sub>- и бета<sub>2</sub>-АР, фосфорилирование сМуВР-С осуществляется по серину 273, серину 282 и серину 302 [7, 17]. В частности, это установили в опытах со скенированными кардиомиоцитами мышей [7]. По данным, полученным на кардиомиоцитах трансгенных мышей [17], в отсутствие бета-адреномиметиков фосфорилирование сМуВР-С с участием ПКА происходит по серину 273 и серину 302, а при наличии в среде бета-адреномиметиков фосфорилирование происходит по серину 282. Эти исследования показали, что если у трансгенных мышей в сМуВР-С серин 282 был замещен на аланин, то блокировался процесс фос-

форилирования по серину 282, но сохранялся процесс фосфорилирования по серину 273 и серину 302 под влиянием ПКА и при этом был ослаблен эффект активации бета-АР, т. е. увеличение сократимости сердца происходило в меньшей степени, чем у мышей дикого типа. Подобный эффект был получен и в условиях *in vivo*. Эти данные указывают на то, что для проявления положительного эффекта активации бета-АР необходимо фосфорилирование сМуВР-С по серину 282, что обеспечивает более эффективное фосфорилирование по серину 273 и серину 302 под влиянием ПКА. По одним данным [25], фосфорилирование происходит также по серину, находящемуся в М-линкере, и осуществляется между доменами С1 и С2 в молекуле сМуВР-С. По другим данным [7], активация сМуВР-С может происходить и за счет фосфорилирования, осуществляемого с участием ПКД, а, следовательно, не только при активации бета<sub>1</sub>-АР и бета<sub>2</sub>-АР, но и при активации альфа<sub>1</sub>-АР. В частности, в опытах со скенированными кардиомиоцитами мышей было установлено [7], что ПКД подобно ПКА способна фосфорилировать сМуВР-С, однако при этом фосфорилируется лишь серин 302, а два других остатка серина (273 и 282) не подвергаются фосфорилированию, как это имеет место при фосфорилировании с участием ПКА.

Таким образом, очевидно, что активация сМуВР-С может происходить при воздействии катехоламинов на бета<sub>1</sub>-АР и бета<sub>2</sub>-АР, при котором повышается активность ПКА, а также при воздействии катехоламинов на альфа<sub>1</sub>-АР, при котором повышается активность ПКС и ПКД.

Относительно характера влияния сМуВР-С на сократимость кардиомиоцитов данные литературы неоднозначны. Согласно одним данным, активация сМуВР-С повышает скорость цикла поперечных мостиков [6, 7, 17], согласно другим – увеличивает максимальную силу сокращений [17, 19, 23, 26] и ускоряет процесс расслабления [17, 19]. Так, опыты [6] с кардиомиоцитами желудочков сердца мышей, нокаутных по гену сМуВР-С, показали, что фосфорилирование сМуВР-С, вызываемое активацией ПКА, уско-



ряет скорость генерации силы и тем самым вносит свой вклад, наблюдаемый в миокарде во время бета-адренергической стимуляции, но снижает скорость расслабления. Опыты на мышцах [23] показали, что при нокауте сМуВР-С развивается сердечная дисфункция, а замена сМуВР-С на сМуВР-С фосфомиметик не приводит к развитию сердечной недостаточности и защищает сердце от ишемии и реперфузии. Опыты со скенированными кардиомиоцитами мышцей [7] показали, что фосфорилирование сМуВР-С с участием ПКД по серину 302 приводит к ускорению кинетики цикла поперечного мостика. Опыты с трансгенными мышцами типа TG<sub>S282A</sub> [17], у которых серин 282 в белке сМуВР-С был заменен на аланин, показали, что в этом случае снижается положительный инотропный эффект катехоламинов, т. к. ПКА не вызывала фосфорилирование серина 282, необходимое для повышения силы сокращения сердца, и не повышала скорость расслабления миокарда.

Одни исследователи [19] считают, что наблюдаемый рост сократимости и повышение скорости расслабления миокарда при активации бета-АР сердца являются следствием активации сМуВР-С. Другие [26] полагают, что у человека сМуВР-С регулирует сокращение мышц и поэтому имеет важное значение для нормального функционирования сердечной мышцы. При мутациях гена сМуВР-С, в частности при мутации R502W в домене С3, может возникать гипертрофическая кардиомиопатия. Согласно некоторым данным, активация сМуВР-С, наоборот, уменьшает сократимость миокарда, в т. ч. за счет снижения АТФ-азной активности актин-миозинового комплекса [25], хотя и ускоряет процесс расслабления [21]. Так, опыты со скенированными кардиомиоцитами мышцей дикого типа и нокаутных по гену сМуВР-С [21] показали, что сила изометрического сокращения была одинакова в обеих группах, а вот пик нормализации сокращения, указывающий на длительность расслабления, у нокаутных мышцей был ниже, чем у мышцей дикого типа.

Авторы заключают, что сМуВР-С является важным регулятором работы миокарда, функция которого состоит в ограничении мощности работы сердца. Опыты показали, что при активации МуВР-С человека и мышцей на фоне высокой концентрации ионов Са в среде (т. е. при рСа = 8) происходит ингибирование АТФ-азной активности актин-миозинового комплекса, а на фоне низкой концентрации ионов Са (рСа = 4) активация с МуВР-С не влияет на эту активность [25]. По мнению группы авторов [23, 24], характер влияния активации сМуВР-С на сократимость кардиомиоцитов зависит от типа, или изоформы, миозина. В частности, исследователи [23], оценивая функцию фосфорилированного сМуВР-С у мышцей, у которых альфа-миозин (или изоформа V1) на 80 % был заменен на бета-миозин (или изоформа V3), который доминирует в миокарде человека, установили, что трансгенные мышцей погибали из-за сердечной недостаточности.

В модельных экспериментах [24], проведенных на трабекулах сердца кролика, было показано, что сМуВР-С влияет на скорость цикла поперечных мостиков, т. е. на скорость скольжения нитей, на активность актин-зависимой Mg<sup>2+</sup>-АТФ-азы, на чувствительность миозина к ионам Са<sup>2+</sup> и на сродство тропонина С к ионам Са, т. е. на функцию тропонин-тропомиозинового комплекса, но характер этих влияний зависит от изоформ миозина. Следует отметить, что, согласно данным источников [23, 24, 27–29], миокард млекопитающих содержит две изоформы миозина – V1 и V3, которые различаются между собой по составу тяжелых (альфа и бета) и легких цепей миозина, а также по кинетическим свойствам. Так, по одним данным [27], изоформа V3 миозина, состоящая из гомодимеров бета-цепей миозина (бета-МуНС), при взаимодействии с актином генерирует более медленное нарастание скорости сокращения, но при этом и более высокую силу изометрического сокращения, чем изоформа V1, которая преимущественно содержит гомодимеры альфа-цепей миозина (альфа-МуНС). Распределение изоформ миозина в сердце зависит от его региона [28], слоя ми-

окарда [24, 29] и видовой принадлежности [23, 28]. По другим данным [28], в сердце взрослых мышей преимущественно экспрессирована альфа-тяжелая цепь миозина, т. е. изоформа V1, но в отдельных областях, например на концах папиллярных мышц и в основании, близких к клапанному кольцу, есть и бета-изоформа, т. е. изоформа V3. А в сердце человека преимущественно экспрессирована бета-тяжелая цепь миозина, т. е. изоформа V3 [23].

Таким образом, обобщая данные литературы в отношении функциональной роли сМуВР-С, отметим, что сведения о распространенности гипертонической кардиопатии среди людей вследствие наличия мутаций гена этого белка [22, 26] или вследствие его удаления у экспериментальных животных [23] подтверждают представление о том, что в целом сМуВР-С способствует реализации сократительной функции сердца благодаря повышению скорости и силы сокращения и повышению скорости расслабления [6, 7, 17, 19, 23, 26]. Действительно, по данным литературы [22, 26], гипертоническая кардиопатия встречается достаточно часто, например, согласно [26], она встречается с частотой 1 на 500 и является основной причиной смерти среди молодых спортсменов. Ряд авторов [22] указывает, что гипертрофическая кардиомиопатия является аутосомно-доминантным заболеванием, к формированию которого причастны 9 генов, имеющих те или иные мутации, среди которых ведущую роль (42 %) занимают мутация гена сМуВР-С и мутация гена бета-тяжелой цепи миозина (40 %). Другие исследователи [26] отмечают, что мутация R502W в гене сМуВР-С приводит к гипертрофической кардиомиопатии, т. к. в этом случае нарушается взаимодействие сМуВР-С с другими белками саркомера. Опыты с трансгенными мышами [23] показали, что при нокауте гена сМуВР-С у животных развивается сердечная недостаточность, а его замена на сМуВР-С-фосфомиметик не приводит к развитию сердечной недостаточности и защищает сердце от ишемии и реперфузии. Также показано, что у мышей при замене альфа-миозина (изоформа

V1) на бета-миозин (изоформа V3) вследствие неспособности сМуВР-С регулировать взаимодействие миозина с актином развивается сердечная недостаточность [23]. Поэтому авторы заключают, что фосфорилирование сМуВР-С может стать мишенью терапевтического воздействия в отношении сердца человека.

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что в регуляции сократимости миокарда человека и животных, к которой имеют отношение катехоламины, ацетилхолин, серотонин, ангиотензин и другие БАВ, а также в регуляции механизмов саморегуляции могут принимать участие протеинкиназы А, В, С и D (ПКА, РКВ, РКС и РКД). При этом мишенями воздействия, как это принято считать, могут быть не только натриевые, калиевые и кальциевые каналы, ионные насосы и ионные обменники, но и регуляторные сократительные белки типа тропонина и миозин-связывающего белка С (сМуВР-С), влияние которых на сократимость зависит от вида миозина кардиомиоцитов. Следует отметить, что ранее основное внимание в литературе уделялось изучению положительного инотропного эффекта катехоламинов. Однако в настоящее время показано, что катехоламины, активируя альфа<sub>1</sub>-АР [30] и бета<sub>3</sub>-АР [31] и даже бета<sub>2</sub>-АР [32], могут оказывать отрицательный инотропный эффект. Поэтому становится актуальным изучение механизмов, лежащих в их основе, например причастность NO к проявлению отрицательного инотропного эффекта при активации бета<sub>2</sub>-АР [32]. Наш обзор литературы показывает, что одним из таких механизмов может быть процесс фосфорилирования тропонина и миозин-связывающего белка С (сМуВР-С), реализуемый с участием ПКА, РКВ, РКС и РКД. Источники говорят и о важном значении для формирования патологии сердца мутаций генов миозин-связывающего белка С (сМуВР-С) и РКД. В целом все это указывает на актуальность разработки вопросов, связанных с изучением роли ПКА, РКВ, РКС и РКД, тропонина, миозина и сМуВР-С в деятельности сердца человека и животных.

## Список литературы

1. Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. М., 2007. 536 с.
2. Katrukha I. Human Cardiac Troponin Complex. Structure and Functions // *Biochemistry (Mosc)*. 2013. Vol. 78, № 13. P. 1447–1465.
3. Nishizawa T., Iwase M., Kanazawa H., Ichihara S., Ichihara G., Nagata K., Obata K., Kitaichi K., Yokoi T., Watanabe M., Tsunematsu T., Ishikawa Y., Murohara T., Yokota M. Serial Alterations of Beta-Adrenergic Signaling in Dilated Cardiomyopathic Hamsters: Possible Role of Myocardial Oxidative Stress // *Circ. J*. 2004. Vol. 68, № 11. P. 1051–1060.
4. Landesberg G., Vesselov Y., Einav S., Goodman S., Sprung C.L., Weissman C. Myocardial Ischemia, Cardiac Troponin, and Long-Term Survival of High-Cardiac Risk Critically Ill Intensive Care Unit Patients // *Crit. Care Med*. 2005. Vol. 33, № 6. P. 1281–1287.
5. Nishio Y., Sato Y., Taniguchi R., Shizuta S., Doi T., Morimoto T., Kimura T., Kita T. Cardiac Troponin T vs Other Biochemical Markers in Patients with Congestive Heart Failure // *Circ. J*. 2007. Vol. 71, № 5. P. 631–635.
6. Stelzer J.E., Patel J.R., Moss R.L. Protein Kinase A-Mediated Acceleration of the Stretch Activation Response in Murine Skinned Myocardium Is Eliminated by Ablation of cMyBP-C // *Circ. Res*. 2006. Vol. 99, № 8. P. 884–890.
7. Bardswell S., Cuello F., Rowland A., Sadayappan S., Robbins J., Gautel M., Walker J., Kentish J., Avkiran M. Distinct Sarcomeric Substrates Are Responsible for Protein Kinase D-Mediated Regulation of Cardiac Myofilament Ca<sup>2+</sup> Sensitivity and Cross-Bridge Cycling // *J. Biol. Chem*. 2010. Vol. 285, № 8. P. 5674–5682.
8. Boontje N., Merkus D., Zaremba R., Versteilen A., Waard M., Mearini G., Beer V., Carrier L., Walker L., Niessen H., Dobrev D., Stienen G., Duncker D., Velden J. van der. Enhanced Myofilament Responsiveness Upon  $\beta$ -Adrenergic Stimulation in Post-Infarct Remodeled Myocardium // *Mol. Cell Cardiol*. 2011. Vol. 50, № 3. P. 487–499.
9. Haworth R., Cuello F., Avkiran M. Regulation by Phosphodiesterase Isoforms of Protein Kinase A-Mediated Attenuation of Myocardial Protein Kinase D Activation // *Basic Res Cardiol*. 2011. Vol. 106, № 1. P. 51–63.
10. Messer A.E., Marston S. Investigating the Role of Uncoupling of Troponin I Phosphorylation from Changes in Myofibrillar Ca<sup>2+</sup>-Sensitivity in the Pathogenesis of Cardiomyopathy // *Front. Physiol*. 2014. Vol. 5. P. 315.
11. Cuello F., Bardswell S.C., Haworth R.S., Yin X., Lutz S., Wieland T., Mayr M., Kentish J.C., Avkiran M. Protein Kinase D Selectively Targets Cardiac Troponin I and Regulates Myofilament Ca<sup>2+</sup> Sensitivity in Ventricular Myocytes // *Circ. Res*. 2007. Vol. 100, № 6. P. 864–873.
12. Molenaar P., Chen L., Semmler A., Parsonage W., Kaumann A. Human Heart Beta-Adrenoceptors: Beta1-Adrenoceptor Diversification Through ‘Affinity States’ and Polymorphism // *Clin. Exp. Pharmacol Physiol*. 2007. Vol. 34, № 10. P. 1020–1028.
13. Phan D., Stratton M., Huynh Q., Kinsey T. A Novel Protein Kinase C Target Site in Protein Kinase D Is Phosphorylated in Response to Signals for Cardiac Hypertrophy // *Biochem Biophys Res Commun*. 2011. Vol. 411, № 2. P. 335–341.
14. Stathopoulou K., Cuello F., Candasamy A., Kemp E., Ehler E., Haworth R., Avkiran M. Four-and-a-Half LIM Domains Proteins Are Novel Regulators of the Protein Kinase D Pathway in Cardiac Myocytes // *Biochem J*. 2014. Vol. 457, № 3. P. 451–461.
15. Moir A.J., Perry S.V. Phosphorylation of Rabbit Cardiac-Muscle Troponin I by Phosphorylase Kinase. The Effect of Adrenaline // *Biochem. J*. 1980. Vol. 191, № 2. P. 547–554.
16. Haworth R., Roberts N., Cuello F., Avkiran M. Regulation of Protein Kinase D Activity in Adult Myocardium: Novel Counter-Regulatory Roles for Protein Kinase C<sub>epsilon</sub> and Protein Kinase A // *J. Mol. Cell Cardiol*. 2007. Vol. 43, № 6. P. 686–695.
17. Gresham K.S., Mamidi R., Stelzer J.E. The Contribution of Cardiac Myosin Binding Protein-c Ser282 Phosphorylation to the Rate of Force Generation and *in vivo* Cardiac Contractility // *J. Physiol*. 2014. Vol. 592, № 17. P. 3747–3765.
18. Guo J., Gertsberg Z., Ozgen N., Sabri A., Steinberg S. Protein Kinase D Isoforms Are Activated in an Agonist-Specific Manner in Cardiomyocytes // *J. Biol Chem*. 2011. Vol. 286, № 8. P. 6500–6509.
19. Rao V., Cheng Y., Lindert S., Wang D., Oxenford L., McCulloch A., McCammon J., Regnier M., Smillie L. PKA Phosphorylation of Cardiac Troponin I Modulates Activation and Relaxation Kinetics of Ventricular Myofibrils // *Biophys J*. 2014. Vol. 107, № 5. P. 1196–1204.

20. *Smillie L.B.* Preparation and Identification of Alpha- and Beta-Tropomyosins // *Methods Enzymol.* 1982. Vol. 85, № 2. P. 234–241.
21. *Korte F.S., McDonald K.S., Harris S.P., Moss R.L.* Loaded Shortening, Power Output, and Rate of Force Redevelopment Are Increased with Knockout of Cardiac Myosin Binding Protein-C // *Circ. Res.* 2003. Vol. 93, № 8. P. 752–758.
22. *Richard P.I., Charron P., Carrier L., Ledeuil C., Cheav T., Pichereau C., Benaiche A., Isnard R., Dubourg O., Burban M., Gueffet J., Millaire A., Desnos M., Schwartz K., Hainque B., Komajda M.* Hypertrophic Cardiomyopathy: Distribution of Disease Genes, Spectrum of Mutations, and Implications for a Molecular Diagnosis Strategy // *Circulation.* 2003. Vol. 107, № 17. P. 2227–2232.
23. *Sadayappan S., Gulick J., Klevitsky R., Lorenz J.N., Sargent M., Molkentin J.D., Robbins J.* Cardiac Myosin Binding Protein-C Phosphorylation in a  $\beta$ -Myosin Heavy Chain Background // *Circulation.* 2009. Vol. 119, № 9. P. 1253–1262.
24. *Shchepkin D., Kopylova G., Nikitina L., Katsnelson L., Bershitsky B.* Effects of Cardiac Myosin Binding Protein-C on the Regulation of Interaction of Cardiac Myosin with Thin Filament in an *in vitro* Motility Assay // *Biochem Biophys Res Commun.* 2010. Vol. 401, № 1. P. 159–163.
25. *Belknap B., Harris S., White H.* Modulation of Thin Filament Activation of Myosin ATP Hydrolysis by N-Terminal Domains of Cardiac Myosin Binding Protein-C // *Biochemistry.* 2014. Vol. 53, № 42. P. 6717–6724.
26. *Zhang X.L., De S., McIntosh L.P., Paetzel M.* Structural Characterization of the C3 Domain of Cardiac Myosin Binding Protein C and Its Hypertrophic Cardiomyopathy-Related R502W Mutant // *Biochemistry.* 2014. Vol. 53, № 32. P. 5332–5342.
27. *Palmiter K.A., Tyska M.J., Dupuis D.E., Alpert N.R., Warsaw D.M.* Kinetic Differences at the Single Molecule Level Account for the Functional Diversity of Rabbit Cardiac Myosin Isoforms // *J. Physiol.* 1999. Vol. 519. Pt 3. P. 669–678.
28. *Krenz M., Sadayappan S., Osinska H.E., Henry J.A., Beck S., Warsaw D.M., Robbins J.* Distribution and Structure-Function Relationship of Myosin Heavy Chain Isoforms in the Adult Mouse Heart // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282, № 33. P. 24057–24064.
29. *Никитина Л.В., Копылова Г.В., Щепкин Д.В., Кацнельсон Л.Б.* Оценка механической активности сердечных изомиозинов VI и V3 методом искусственных подвижных систем с регулируемой тонкой нитью // *Биофизика.* 2008. Т. 53(6). С. 956–962.
30. *Chu C., Thai K., Park K.W., Wang P., Makwana O., Lovett D.H., Simpson P.C., Baker A.J.* Intraventricular and Interventricular Cellular Heterogeneity of Inotropic Responses to  $\alpha(1)$ -Adrenergic Stimulation // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. Vol. 304, № 7. P. 946–953.
31. *Cawley S.M., Kolodziej S., Ichinose F., Brouckaert P., Buys E.K., Bloch K.D.* sGC $\alpha$ 1 Mediates the Negative Inotropic Effects of NO in Cardiac Myocytes Independent of Changes in Calcium Handling // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2011. Vol. 301, № 1. P. 157–163.
32. *Одношвикина Ю.Г., Петров А.М., Зефирова А.Л.* Механизм опосредуемой  $\beta_2$ -адренорецепторами медленно развивающейся положительной инотропной реакции предсердий мыши // *Рос. физиолог. журн. им. Сеченова.* 2011. Т. 97(11). С. 1223–1236.

### References

1. *Mushkambarov N.N., Kuznetsov S.L.* *Molekulyarnaya biologiya* [Molecular Biology]. Moscow, 2007. 536 p.
2. *Katruxha I.A.* Human Cardiac Troponin Complex. Structure and Functions. *Biochemistry (Mosc)*, 2013, vol. 78, no. 13, pp. 1447–1465.
3. *Nishizawa T., Iwase M., Kanazawa H., Ichihara S., Ichihara G., Nagata K., Obata K., Kitaichi K., Yokoi T., Watanabe M., Tsunematsu T., Ishikawa Y., Murohara T., Yokota M.* Serial Alterations of Beta-Adrenergic Signaling in Dilated Cardiomyopathic Hamsters: Possible Role of Myocardial Oxidative Stress. *Circ. J.*, 2004, vol. 68, no. 11, pp. 1051–1060.
4. *Landesberg G., Vesselov Y., Einav S., Goodman S., Sprung C.L., Weissman C.* Myocardial Ischemia, Cardiac Troponin, and Long-Term Survival of High-Cardiac Risk Critically Ill Intensive Care Unit Patients. *Crit. Care Med.*, 2005, vol. 33, no. 6, pp. 1281–1287.



5. Nishio Y., Sato Y., Taniguchi R., Shizuta S., Doi T., Morimoto T., Kimura T., Kita T. Cardiac Troponin T vs Other Biochemical Markers in Patients with Congestive Heart Failure. *Circ. J.*, 2007, vol. 71, no. 5, pp. 631–635.
6. Stelzer J.E., Patel J.R., Moss R.L. Protein Kinase A-Mediated Acceleration of the Stretch Activation Response in Murine Skinned Myocardium Is Eliminated by Ablation of cMyBP-C. *Circ. Res.*, 2006, vol. 99, no. 8, pp. 884–890.
7. Bardswell S.C., Cuello F., Rowland A.J., Sadayappan S., Robbins J., Gautel M., Walker J.W., Kentish J.C., Avkiran M. Distinct Sarcomeric Substrates Are Responsible for Protein Kinase D-Mediated Regulation of Cardiac Myofilament Ca<sup>2+</sup> Sensitivity and Cross-Bridge Cycling. *J. Biol. Chem.*, 2010, vol. 285, no. 8, pp. 5674–5682.
8. Boontje N.M., Merkus D., Zaremba R., Versteilen A., de Waard M.C., Mearini G., de Beer V.J., Carrier L., Walker L.A., Niessen H.W., Dobrev D., Stienen G.J., Duncker D.J., van der Velden J. Enhanced Myofilament Responsiveness Upon  $\beta$ -Adrenergic Stimulation in Post-Infarct Remodeled Myocardium. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 2011, vol. 50, no. 3, pp. 487–499.
9. Haworth R.S., Cuello F., Avkiran M. Regulation by Phosphodiesterase Isoforms of Protein Kinase A-Mediated Attenuation of Myocardial Protein Kinase D Activation. *Basic Res. Cardiol.*, 2011, vol. 106, no. 1, pp. 51–63.
10. Messer A.E., Marston S. Investigating the Role of Uncoupling of Troponin I Phosphorylation from Changes in Myofibrillar Ca (2+)-Sensitivity in the Pathogenesis of Cardiomyopathy. *Front. Physiol.*, 2014, vol. 5, p. 315.
11. Cuello F., Bardswell S.C., Haworth R.S., Yin X., Lutz S., Wieland T., Mayr M., Kentish J.C., Avkiran M. Protein Kinase D Selectively Targets Cardiac Troponin I and Regulates Myofilament Ca<sup>2+</sup> Sensitivity in Ventricular Myocytes. *Circ. Res.*, 2007, vol. 100, no. 6, pp. 864–873.
12. Molenaar P., Chen L., Semmler A.B., Parsonage W.A., Kaumann A.J. Human Heart Beta-Adrenoceptors: Beta1-Adrenoceptor Diversification Through ‘Affinity States’ and Polymorphism. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2007, vol. 34, no. 10, pp. 1020–1028.
13. Phan D., Stratton M.S., Huynh Q.K., McKinsey T.A. A Novel Protein Kinase C Target Site in Protein Kinase D Is Phosphorylated in Response to Signals for Cardiac Hypertrophy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, vol. 411, no. 2, p. 335–341.
14. Stathopoulou K., Cuello F., Candasamy A.J., Kemp E.M., Ehler E., Haworth R.S., Avkiran M. Four-and-a-Half LIM Domains Proteins Are Novel Regulators of the Protein Kinase D Pathway in Cardiac Myocytes. *Biochem. J.*, 2014, vol. 457, no. 3, pp. 451–461.
15. Moir A.J., Perry S.V. Phosphorylation of Rabbit Cardiac-Muscle Troponin I by Phosphorylase Kinase. The Effect of Adrenaline. *Biochem. J.*, 1980, vol. 191, no. 2, pp. 547–554.
16. Haworth R.S., Roberts N.A., Cuello F., Avkiran M. Regulation of Protein Kinase D Activity in Adult Myocardium: Novel Counter-Regulatory Roles for Protein Kinase C<sub>epsilon</sub> and Protein Kinase A. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 2007, vol. 43, no. 6, pp. 686–695.
17. Gresham K.S., Mamidi R., Stelzer J.E. The Contribution of Cardiac Myosin Binding Protein-c Ser282 Phosphorylation to the Rate of Force Generation and *in vivo* Cardiac Contractility. *J. Physiol.*, 2014, vol. 592, no. 17, pp. 3747–3765.
18. Guo J., Gertsberg Z., Ozgen N., Sabri A., Steinberg S.F. Protein Kinase D Isoforms Are Activated in an Agonist-Specific Manner in Cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.*, 2011, vol. 286, no. 8, pp. 6500–6509.
19. Rao V., Cheng Y., Lindert S., Wang D., Oxenford L., McCulloch A.D., McCammon J.A., Regnier M. PKA Phosphorylation of Cardiac Troponin I Modulates Activation and Relaxation Kinetics of Ventricular Myofibrils. *Biophys. J.*, 2014, vol. 107, no. 5, pp. 1196–1204.
20. Smillie L.B. Preparation and Identification of Alpha- and Beta-Tropomyosins. *Methods Enzymol.*, 1982, vol. 85, no. 2, pp. 234–241.
21. Korte F.S., McDonald K.S., Harris S.P., Moss R.L. Loaded Shortening, Power Output, and Rate of Force Redevelopment Are Increased with Knockout of Cardiac Myosin Binding Protein-C. *Circ. Res.*, 2003, vol. 93, no. 8, pp. 752–758.
22. Richard P., Charron P., Carrier L., Ledeuil C., Cheav T., Pichereau C., Benaiche A., Isnard R., Dubourg O., Burban M., Gueffet J., Millaire A., Desnos M., Schwartz K., Hainque B., Komajda M. Hypertrophic Cardiomyopathy: Distribution of Disease Genes, Spectrum of Mutations, and Implications for a Molecular Diagnosis Strategy. *Circulation*, 2003, vol. 107, no. 17, pp. 2227–2232.
23. Sadayappan S., Gulick J., Klevitsky R., Lorenz J.N., Sargent M., Molkentin J.D., Robbins J. Cardiac Myosin Binding Protein-C Phosphorylation in a  $\beta$ -Myosin Heavy Chain Background. *Circulation*, 2009, vol. 119, no. 9, pp. 1253–1262.

24. Shchepkin D., Kopylova G., Nikitina L., Katsnelson L., Bershtitsky B. Effects of Cardiac Myosin Binding Protein-C on the Regulation of Interaction of Cardiac Myosin with Thin Filament in an *in vitro* Motility Assay. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010, vol. 401, no. 1, pp. 159–163.

25. Belknap B., Harris S.P., White H.D. Modulation of Thin Filament Activation of Myosin ATP Hydrolysis by N-Terminal Domains of Cardiac Myosin Binding Protein-C. *Biochemistry*, 2014, vol. 53, no. 42, pp. 6717–6724.

26. Zhang X.L., De S., McIntosh L.P., Paetzel M. Structural Characterization of the C3 Domain of Cardiac Myosin Binding Protein C and Its Hypertrophic Cardiomyopathy-Related R502W Mutant. *Biochemistry*, 2014, vol. 53, no. 32, pp. 5332–5342.

27. Palmiter K.A., Tyska M.J., Dupuis D.E., Alpert N.R., Warshaw D.M. Kinetic Differences at the Single Molecule Level Account for the Functional Diversity of Rabbit Cardiac Myosin Isoforms. *J. Physiol.*, 1999, vol. 519, Pt 3, pp. 669–678.

28. Krenz M., Sadayappan S., Osinska H.E., Henry J.A., Beck S., Warshaw D.M., Robbins J. Distribution and Structure-Function Relationship of Myosin Heavy Chain Isoforms in the Adult Mouse Heart. *J. Biol. Chem.*, 2007, vol. 282, no. 33, pp. 24057–24064.

29. Nikitina L.V., Kopylova G.V., Shchepkin D.V., Katsnel'son L.B. Otsenka mekhanicheskoy aktivnosti serdechnykh izomiozinov VI i V3 metodom iskusstvennykh podvizhnykh sistem s reguliruemoy tonkoy nit'yu [Assessment of the Mechanical Activity of Cardiac Isomyosins VI and V3 by the *in vitro* Motility Assay with Regulated Thin Filament]. *Biofizika*, 2008, vol. 53, no. 6, pp. 956–962.

30. Chu C., Thai K., Park K.W., Wang P., Makwana O., Lovett D.H., Simpson P.C., Baker A.J. Intraventricular and Interventricular Cellular Heterogeneity of Inotropic Responses to  $\alpha(1)$ -Adrenergic Stimulation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2013, vol. 304, no. 7, pp. 946–953.

31. Cawley S.M., Kolodziej S., Ichinose F., Brouckaert P., Buys E.S., Bloch K.D.  $sGC\alpha_1$  Mediates the Negative Inotropic Effects of NO in Cardiac Myocytes Independent of Changes in Calcium Handling. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2011, vol. 301, no. 1, pp. 157–163.

32. Odnoshivkina Yu.G., Petrov A.M., Zefirov A.L. Mekhanizm oposreduemoy  $\beta_2$ -adrenoretseptorami medlenno razvivayushchey polozhitel'noy inotropnoy reaktsii predserdiy myshi [Mechanism of the Slow Inotropic Response of the Mouse Atrium Mediated by the  $\beta_2$ -Adrenoreceptor]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*, 2011, vol. 97, no. 11, pp. 1223–1236.

**Tsirkin Viktor Ivanovich**

Kazan State Medical University (Kazan, Russia)

**Korotaeva Yuliya Vladimirovna**

Postgraduate Student, Natural Geography Faculty, Vyatka State Humanities University (Kirov, Russia)

### THE ROLE OF PROTEIN KINASE A, B, C AND D IN THE REGULATION OF CARDIOMYOCYTE CONTRACTILITY (Review. Report II)

This review discusses the role of protein kinase D (PKD) and protein kinase A (PKA) in the regulation of myocardial contractility due to the cardiac troponin I (cTnI) and cardiac myosin-binding protein C (cMyBP-C) phosphorylation. In particular, it is reported that PKD, whose activity increases at interaction between catecholamines and  $\alpha_1$ -adrenoceptors (AR), phosphorylates troponin I. This reduces the ability of troponin I to change its conformation under the influence of troponin C and, thereby, reduces cardiomyocyte contractility, even though their relaxation rate increases. Protein kinase A, which is activated by interaction of catecholamines with  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -AR (at Gs-signaling), counteracts the decrease of myocardial contractility under the influence of PKD. As we know, cMyBP-C is localized in the overlap of thick and thin filaments, i.e. in the C- zone of the A disk. Its phosphorylation, i.e. activation, is mediated by PKA (at serine 273, 282 and 302), which is observed during the interaction of catecholamines with  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -AR, and by PKD (at serine 302), which is observed during the interaction between catecholamines and  $\alpha_1$ -AR. Some data indicate that activated cMyBP-C improves the contraction and relaxation rates and increases contractility,

while other data show that it reduces myocardial contractility but speeds up relaxation. This contradiction can be explained by the fact that the effect of cMyBP-C depends on myosin isoforms (alpha, or V1; beta or V3), whose distribution is determined by the region and the layer of heart as well as their type. It is shown that during cMyBP-C or PKD gene mutations there develops hypertrophic cardiomyopathy, one of the causes of sudden death in young athletes. This review proves the relevance of further research into the role of protein kinase A, B, C and D, troponin, myosin and cMyBP-C in the cardiac performance of humans and animals.

**Keywords:** *protein kinase A, protein kinase B, protein kinase C, protein kinase D, cardiomyocyte, contractility, catecholamines.*

*Контактная информация:*

Циркин Виктор Иванович

*адрес:* 610002, г. Киров, ул. Свободы, д. 122;

*e-mail:* tsirkin@list.ru

Коротаяева Юлия Владимировна

*адрес:* 610002, г. Киров, ул. Свободы, д. 122;

*e-mail:* segecha-meinherz@mail.ru