

Кардиопротекторные свойства хлорида лития на модели инфаркта миокарда у крыс

Для корреспонденции:

Антон Валерьевич Ершов,
salavatprof@mail.ru

Поступила в редакцию 23 июня 2019 г.
Исправлена 6 августа 2019 г.
Принята к печати 7 августа 2019 г.

Цитировать:

Гребенчиков О.А., Лобанов А.В., Шайхутдинова Э.Р., Кузовлев А.Н., Ершов А.В., Лихванцев В.В. Кардиопротекторные свойства хлорида лития на модели инфаркта миокарда у крыс. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2019;23(2):43-49. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2019-2-43-49>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ORCID ID

В.В. Лихванцев, <https://orcid.org/0000-0002-5442-6950>

Вклад авторов

Концепция и дизайн работы:
А.Н. Кузовлев

Сбор и анализ данных:
О.А. Гребенчиков

Статистическая обработка данных:
А.В. Ершов

Написание статьи:
А.В. Лобанов, Э.Р. Шайхутдинова

Исправление статьи:
В.В. Лихванцев

Утверждение окончательного варианта статьи: О.А. Гребенчиков, А.В. Лобанов, Э.Р. Шайхутдинова, А.Н. Кузовлев, А.В. Ершов, В.В. Лихванцев

© О.А. Гребенчиков, А.В. Лобанов, Э.Р. Шайхутдинова, А.Н. Кузовлев, А.В. Ершов, В.В. Лихванцев, 2019.

Статья открытого доступа, распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0.

О.А. Гребенчиков^{1,2}, А.В. Лобанов³, Э.Р. Шайхутдинова⁴,
А.Н. Кузовлев², А.В. Ершов^{2,5}, В.В. Лихванцев^{1,5}

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

² ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского», Москва, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация

⁴ Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

⁵ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Актуальность

Одним из вариантов защиты клетки от повреждений при ишемии-реперфузии является активация процесса ишемического прекондиционирования, ключевым звеном защитного механизма которого является фермент киназа гликогенсинтазы-3β, способный в фосфорилированном состоянии предотвращать открытие митохондриальных пор и гибель клетки, опосредованной повреждением митохондрий.

Цель. Изучение кардиопротекторных свойств хлорида лития *in vivo* на модели инфаркта миокарда у крыс.

Методы

В эксперименте использовали 12 самцов крыс линии Sprague – Dawley. Животные случайным образом были распределены на две группы по 6 крыс в каждой. Далее у животных обеих групп моделировали ишемию сердца и последующую реперфузию. В момент начала реперфузии животным основной группы вводили хлорид лития в дозе 30 мг/кг внутривенно через катетер, животным группы сравнения — физиологический раствор по той же схеме в объеме 0,5 мл/кг. Контролем служили ложнопериорированные крысы (n = 5), которым не вводили препараты кроме анестезии при разрезе кожи. В конце каждого эксперимента у животных подсчитывали общую площадь зоны риска, площадь зоны инфаркта и левого желудочка при помощи методики двойного окрашивания 2%-м метиленовым синим и 1%-м трифенилтетразолием хлоридом. Для оценки содержания киназы гликогенсинтазы-3β в ткани миокарда выполнена отдельная серия экспериментов. В эксперименте использовано 15 самцов крыс Sprague – Dawley. Эксперимент аналогичен вышеописанному, однако в конце сердца извлекали с целью гомогенизации и определения концентрации киназы гликогенсинтазы-3β методом электрофореза.

Результаты

В группе животных, получавших хлорид лития, наблюдалось статистически значимое снижение зоны инфаркта по сравнению с группой животных, получавших физиологический раствор. Разница между показателями обеих групп составила более 26% (p < 0,05).

Выводы

Результаты исследования доказывают защитное действие 4,2%-го раствора лития хлорида в дозе 30 мг/кг, введенного в момент начала реперфузии, в отношении кардиомиоцитов на модели инфаркта миокарда у крыс. Данное действие заключалось в уменьшении зоны инфаркта в сравнении с контрольными животными и, вероятно, было опосредовано практически двукратным ростом содержания фосфорилированной формы киназы гликогенсинтазы-3β в миокарде.

Ключевые слова: инфаркт миокарда; кардиопротекция; лития хлорид

Введение

Одним из вариантов защиты клетки от повреждений при ишемии-реперфузии может быть активация процесса ишемического прекондиционирования. Данный феномен, открытый С.Е. Murry и соавт. в 1986 г. [1–3], заключается в том, что после серии сеансов кратковременной ишемии сердце приобретает повышенную устойчивость к повреждению в результате длительного нарушения коронарного кровотока [4–6]. Ключевым звеном защитного механизма при ишемическом прекондиционировании является фермент киназа гликогенсинтазы-3 β [2, 3]. В фосфорилированном (инактивированном) состоянии киназа гликогенсинтазы-3 β предотвращает открытие так называемой митохондриальной поры и гибель клетки, опосредованной повреждением митохондрий.

В последующих работах установлено, что не только пре-, но и посткондиционирование (воздействие во время реперфузии) уменьшают размер инфаркта за счет ингибирования киназы гликогенсинтазы-3 β [4, 5].

В настоящее время способность инактивировать киназу гликогенсинтазы-3 β в кардиомиоцитах показана для целого ряда лекарственных препаратов, таких как морфин [6] и агонисты δ -опиоидных рецепторов [7, 8], эритропоэтин [9], брадикинин [10], A1\A2 агонисты аденозина [11], ингибитор поли(АДФ-рибоза)-полимеразы [12]; ингаляционные анестетики: ксенон [13], севофлуран и изофлуран [14, 15], экзогенный Zn²⁺ [16] и Li⁺ [17]. В экспериментальном исследовании на мышах было показано, что стимуляция тройничного нерва (прекондиционирование) также увеличивает фосфорилирование киназы гликогенсинтазы-3 β , и тем самым обеспечивает кардиопротекцию [17]. Эффективность ингаляционных анестетиков (ксенон [13], изофлуран [3, 8]) показана не только в исследованиях на животных, данные об их кардиопротекторных свойствах получены и в клинической практике [3, 18, 19].

Таким образом, фосфорилирование киназы гликогенсинтазы-3 β является ключевым молекулярным механизмом кардиопротекции, показанным для различных групп фармакологических препаратов. Поэтому, как нам представляется, изучение этого механизма является перспективным для поиска препаратов с потенциальными кардиопротекторными свойствами.

Препараты лития уже более 60 лет успешно применяются в психиатрии для лечения маниакально-депрессивных психозов и биполярных расстройств.

Было замечено, что у пациентов с биполярными расстройствами, принимающих обсуждаемый препарат, снижен риск возникновения инсульта. Позднее многочисленные экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo* подтвердили нейропротекторные свойства препарата [4, 20–22].

Ион лития является самым известным ингибитором киназы гликогенсинтазы-3 β . Добавление хлорида лития к культуре кардиомиоцитов при индуцированной ишемии/оксигенации обеспечивает лучшее выживание клеток, сопоставимое с ишемическим прекондиционированием [16]. Также хлорид лития уменьшает размер инфаркта в моделях с изолированным сердцем крыс [5, 20].

Эффекты хлорида лития в моделях *in vivo* не изучались, поэтому целью настоящего исследования явилась оценка кардиопротекторных свойств хлорида лития *in vivo* на модели инфаркта миокарда у крыс.

Гипотеза исследования заключалась в формировании кардиопротективного эффекта лития хлорида в условиях целостного организма при реперфузии миокарда после 25 мин ишемии на фоне окклюзии коронарных сосудов за счет увеличения содержания фосфорилированной формы фермента киназы гликогенсинтазы-3 β .

Методы

В эксперименте использовано 12 самцов крыс Спрег – Доули (англ. Sprague – Dawley) возрастом 8–9 недель, массой 300–350 г. Животные случайным образом были распределены на две группы по 6 крыс в каждой. Далее у животных обеих групп моделировали ишемию сердца и последующую реперфузию. В момент начала реперфузии животным основной группы вводили хлорид лития в дозе 30 мг/кг внутривенно через катетер (примерно через 20 с после ослабления окклюдера), животным группы сравнения — физиологический раствор по той же схеме в объеме 0,5 мл/кг.

Перед манипуляциями животных подвергали уретановому наркозу (1,5 г/кг веса тела, внутривенно). Инфаркт миокарда у крыс моделировали путем окклюзии левой коронарной артерии с ее последующей реперфузией по общепринятой методике [23].

Окклюзию левой коронарной артерии проводили следующим образом: у наркотизированного животного при искусственной вентиляции легких (аппарат UGO BASILE 7025, Италия; частота дыхания

60 мин-1) выполняли торакотомию слева в четвертом межреберье. Затем рассекали перикард, визуально определяли положение общего ствола левой коронарной артерии, при помощи атравматической иглы подводили под него полиамидную нить (ETHILON 6-0). В конце манипуляций нить помещали в полиэтиленовую трубку PE-10, получая окклюдер для моделирования обратимой ишемии миокарда [4].

Для остановки кровотока нити затягивали и фиксировали гемостатическим зажимом [25]. После периода окклюзии проводили реперфузию — восстановление кровотока путем высвобождения артерии. Окклюзия длилась 25 мин. Длительность реперфузионного периода составляла 90 мин.

Адекватность данной методики моделирования инфаркта доказана ранее в экспериментальных исследованиях [5, 7, 12, 24].

Гемодинамические параметры измеряли в исходном состоянии, до момента наступления окклюзии, а также во время отсутствия кровотока в левой коронарной артерии и реперфузии. Для контроля наличия ишемии миокарда у животных регистрировали электрокардиограммы в грудном отведении. Признаками развития ишемии миокарда считали подъем сегмента ST выше изоэлектрической линии, снижение зубца R или его замену комплексом QS.

По завершении эксперимента методом двойного окрашивания 2%-м метиленовым синим и 1%-м трифенилтетразолием хлоридом у каждого животного рассчитывали общую площадь зоны риска, площадь зоны инфаркта и площадь миокарда левого желудочка. Для определения зоны миокарда, лишенной кровоснабжения (зоны риска), в ходе эксперимента в момент окончания реперфузии в бедренную вену животного вводили 2 мл 2%-го раствора метиленового синего, который окрашивал в синий цвет только кровоснабжаемую часть миокарда. Для идентификации некротизированных участков миокарда (зоны инфаркта) срезы левого желудочка толщиной 2 мм в течение 15 мин при температуре 37 °C окрашивали 1%-м трифенилтетразолием хлоридом. В зоне риска живая ткань окрашивалась в красный цвет, некротизированные участки оставались неокрашенными. После окраски срезы фиксировали в 10%-м формалине, затем сканировали с двух сторон и обрабатывали с помощью компьютерной планиметрии. Окончательные

результаты получали в виде процентных соотношений общей площади зоны риска к общей площади левого желудочка сердца (ЗР/ЛЖ, %), а также отношения площади зоны инфаркта к общей площади зоны риска (ЗИ/ЗР, %). О наличии кардиопротекторных свойств у изучаемых соединений судили по способности уменьшать соотношение площади зоны инфаркта к общей площади зоны риска [4].

Для оценки содержания киназы гликогенсинтазы-3 β в ткани миокарда выполнена отдельная серия экспериментов. В эксперименте использовано 15 самцов крыс Спрег – Доули возрастом 8–9 недель, массой 300–350 г. Животных случайным образом распределили на три группы по 5 крыс в каждой: основная группа, получившая хлорид лития; группа сравнения, получившая физиологический раствор, и группа контроля. Контролем служили ложнопериоперированные крысы, которым не вводились препараты кроме анестезии при разрезе кожи. Вышеописанным способом у животных обеих групп моделировали ишемию сердца и последующую реперфузию. В конце каждого эксперимента у животных извлекали сердце и измельчали его скальпелем в течение 30 секунд, затем с гомогенатом проводили манипуляции, описанные нами ранее [27]. Гомогенат растворяли в буфере, содержащем 0,125 М Трис-HCl (pH 6,8), 4% додецилсульфата натрия (Sigma Chemical Co., США), 20% глицерина, 0,005% бромфенола синего (Sigma Chemical Co., США) и 10% 2 β -меркаптоэтанола (Merck, Германия). Затем в течение 2 мин образцы кипятили на водяной бане, после чего их переносили в 15%-й трис-глицериновый полиакриламидный гель в концентрации 50 мг белка на лунку. Электрофорез проводили при постоянном токе 10 мА в режиме концентрирования и 15 мА в режиме разделения. По окончании электрофореза переносили белки на мембрану из поливинилиденфторида (Amersham Pharmacia Biotech, UK). Мембраны блокировали в 5%-м обезжиренном молоке на 0,1%-м фосфатном буфере, затем инкубировали с первичными антителами против киназы гликогенсинтазы-3 β (Mouse Monoclonal 1:1000, Cell Signaling, USA) или фосфорилированной формы киназы гликогенсинтазы-3 β (Mouse Monoclonal 1:1000, Cell Signaling, USA). Далее мембраны инкубировали с вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена (Calbiochem, USA), в разведении 1:10000. Детекцию связанных антител проводили с помощью хемиллю-

Таблица 1 Значения отношения площади зоны инфаркта к зоне риска и зоны риска к зоне инфаркта у контрольных животных и животных с введением хлорида лития в момент реперфузии

Группа	Площадь зоны инфаркта / площадь зоны риска, % M (SD)	Площадь зоны риска / площадь левого желудочка, % M (SD)	Препарат
Сравнение (n = 5)	41,61 ± 2,44	35,17 ± 4,97	Физиологический раствор 0,5 мл/кг при реперфузии
Основная (n = 5)	30,55 ± 5,46 *	34,66 ± 3,29	Хлорид лития в дозе 30 мг/кг при реперфузии

Примечание. * $p < 0,05$ относительно группы сравнения (U-критерий Манна – Уитни). Данные представлены в виде среднего (M) и стандартного отклонения (SD)

минесцентного субстрата пероксидазы хрена ECL (Enhanced Chemiluminescence System, Amersham Pharmacia Biotech, UK). Хемилюминесценция детектировалась на фотопленку. Отсканированные изображения анализировали с помощью программы ImageJ (NIH, Bethesda, MD, USA). Интенсивность сигнала белка фосфокиназы гликогенсинтазы-3 β нормализовали к интенсивности общего белка киназы гликогенсинтазы-3 β для каждой полосы.

Все эксперименты проведены в соответствии с международными рекомендациями и российскими нормативно-правовыми документами: Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (EST № 123 от 18 марта 1986 г., Страсбург); Приказом Минздрава России от 01.04.2016 N 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»; ГОСТ 33044-2014, Межгосударственный стандарт, Принципы надлежащей лабораторной практики (введен в действие Приказом Росстандарта от 20.11.2014 N 1700-ст), а также одобрены этическим комитетом ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» (протокол № 14/03, 01.03.2018).

Таблица 2

Результаты денситометрического анализа вестерн-блота на содержание белка киназы гликогенсинтазы-3 β (общий) в кардиомиоцитах исследуемых крыс, Me [LQ–HQ]

Группа	Киназа гликогенсинтазы-3 β , у. е. л.	%
Контроль (n = 5)	857454 [770256–880934]	100
Сравнение (n = 5)	895756 [820343–915855]	104
Основная (n = 5)	799721 [740828–810927]	93

Примечание. у. е. л. — условные единицы хемилюминесценции

Статистический анализ

Для всех количественных данных применена описательная статистика. Данные проанализированы с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Статистический анализ выполнен в программе Statistica 7.1. Различия определялись при 5%-ом уровне значимости.

Результаты

Во время экспериментов летальность в контрольной и основной, с введением хлорида лития, группах составила по одному животному. Смерть наступала в результате остановки сердца животного в момент окклюзии левой коронарной артерии до момента введения препаратов.

Определение соотношения общей площади зоны риска к общей площади левого желудочка сердца не выявило различий у животных обеих групп (табл. 1), что указывает на стандартный уровень перевязки левой коронарной артерии и равные начальные условия ишемии миокарда в исследуемых группах.

В группе животных, получавших хлорид лития в начале реперфузии, наблюдалось достоверное снижение зоны инфаркта по сравнению с группой живот-

Таблица 3

Результаты денситометрического анализа вестерн-блота на содержание фосфорилированной формы белка киназы гликогенсинтазы-3 β в кардиомиоцитах исследуемых крыс, Me [LQ–HQ]

Группа	Фосфокиназа гликогенсинтазы-3 β , у. е. л.	%
Контроль (n = 5)	777780 * [720756–801957]	100 *
Сравнение (n = 5)	815790 * [730956–825850]	105 *
Основная (n = 5)	1505921 [1495821–1588929]	194

Примечание. у. е. л. — условные единицы хемилюминесценции; * $p < 0,01$ при попарном сравнении

ных, получавших физиологический раствор. Разница между показателями обеих групп составила более 26% ($p < 0,05$).

При сравнении трех групп (табл. 2) по уровню содержания общего белка киназы гликогенсинтазы-3 β в кардиомиоцитах статистически значимых различий не выявлено. Данный факт свидетельствует о сопоставимости животных разных групп и отсутствии влияния хлорида лития на уровень содержания общего белка киназы гликогенсинтазы-3 β .

Вместе с тем обнаружено увеличение фосфокиназы гликогенсинтазы-3 β в кардиомиоцитах крыс, которым вводили хлорид лития, до 200% ($p < 0,01$) по отношению к группам контроля и сравнения (табл. 3).

Обсуждение

В нашем исследовании доказано защитное действие 4,2%-го раствора лития хлорида в дозе 30 мг/кг, введенного в момент начала реперфузии, в отношении кардиомиоцитов на модели инфаркта миокарда у крыс. Данное действие заключалось в уменьшении зоны инфаркта в сравнении с контрольными животными и, вероятно, было опосредовано практически двукратным ростом содержания фосфорилированной формы белка киназы гликогенсинтазы-3 β в миокарде.

Ранее схожий результат получила группа исследователей во главе с М. Juhaszova [16], но *in vitro*. Авторы показали, что хлорид лития в среде культивации кардиомиоцитов при часовой ишемии и 3-часовой реоксигенации обеспечивает лучшее (более чем в 6 раз, $p < 0,05$) выживание клеток по сравнению с группой контроля. Необходимо отметить, что результат, полученный в группе с использованием хлорида лития, превосходил таковой в группе с ишемическим preconditionированием практически в три раза ($p < 0,05$) [16].

Кардиопротекторные свойства хлорида лития также подтверждены *ex vivo* на модели изолированных по Лангендорфу сердец крыс. Авторы обнаружили, что применение хлорида лития за 30 мин до глобальной ишемии и последующая реоксигенация уменьшают площадь инфаркта миокарда и улучшают глобальную сократительную способность миокарда [5, 20].

В другом эксперименте на модели гипертрофии миокарда кроликов R. Barillas с коллегами продемонстрировали сохранение функции сердца на близком к исходному уровню при условии добавления лития хлорида в дозе 0,1 ммоль/л к раствору для кардиopleгии [26].

Описанные эксперименты проводились на изолированных, а следовательно, денервированных сердцах

животных, поэтому результаты требуют подтверждения в моделях *in vivo*, что и было впервые сделано в настоящем исследовании.

Результаты нашего и предшествующих исследований свидетельствуют о наличии у хлорида лития кардиопротекторных свойств. Критическая масса доказательств, свидетельствующая о необходимости перехода к клиническим исследованиям, достигнута, необходима вторая (клиническая) фаза испытаний хлорида лития.

Заключение

Внутривенное введение хлорида лития в момент начала реперфузии оказывает кардиопротективное действие на модели инфаркта миокарда у крыс, уменьшая зону инфаркта, что сопровождается практически двукратным ростом содержания фосфорилированной формы фермента киназы гликогенсинтазы-3 β в миокарде.

Список литературы / References

1. Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36. PMID: 3769170 <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.74.5.1124>
2. Chanoit G., Lee S., Xi J., Zhu M., McIntosh R.A., Mueller R.A., Norfleet E.A., Xu Z. Exogenous zinc protects cardiac cells from reperfusion injury by targeting mitochondrial permeability transition pore through inactivation of glycogen synthase kinase-3 β . *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295(3):H1227-H1233. PMID: 18660440 PMCID: PMC2544499 <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00610.2008>
3. Li H., Lang X.E. Protein kinase C signaling pathway involvement in cardioprotection during isoflurane pretreatment. *Mol Med Rep*. 2015;11(4):2683-8. PMID: 25482108 <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2014.3042>
4. Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В. Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общая реаниматология*. 2013;9(1):63. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-63> [Moroz V.V., Silachev D.N., Plotnikov E.Y., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A., Likhvantsev V.V. Mechanisms of Cell Damage and Protection in Ischemia/Reperfusion and Experimental Rationale for the Use of Lithium-Based Preparations in Anesthesiology. *General Reanimatology*. 2013;9(1):63. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-63>]
5. Faghihi M., Mirershadi F., Dehpour A.R., Bazargan M. Preconditioning with acute and chronic lithium administration reduces ischemia/reperfusion injury mediated by cyclooxygenase not nitric oxide synthase pathway in isolated rat heart. *Eur J Pharmacol*. 2008;597(1-3):57-63. PMID: 18789320 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.08.010>
6. Obame F.N., Plin-Mercier C., Assaly R., Zini R., Dubois-Randé J.L., Berdeaux A., Morin D. Cardioprotective effect of morphine and a blocker of glycogen synthase kinase 3 beta, SB216763 [3-(2,4-dichlorophenyl)-4-(1-methyl-1H-indol-3-yl)-1H-pyrrole-2,5-

- dione], via inhibition of the mitochondrial permeability transition pore. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008;326(1):252-8. PMID: 18434587 <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.108.138008>
7. Gross E.R., Hsu A.K., Gross G.J. Opioid-induced cardioprotection occurs via glycogen synthase kinase beta inhibition during reperfusion in intact rat hearts. *Circ Res.* 2004;94(7):960-6. PMID: 14976126 <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.0000122392.33172.09>
 8. Gross E.R., Hsu A.K., Gross G.J. The JAK/STAT pathway is essential for opioid-induced cardioprotection: JAK2 as a mediator of STAT3, Akt, and GSK-3 beta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291(2):H827-34. PMID: 16517948 <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00003.2006>
 9. Nishihara M., Miura T., Miki T., Sakamoto J., Tanno M., Kobayashi H., Ikeda Y., Ohori K., Takahashi A., Shimamoto K. Erythropoietin affords additional cardioprotection to preconditioned hearts by enhanced phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 beta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291(2):H748-55. PMID: 16565311 <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00837.2005>
 10. Park S.S., Zhao H., Mueller R.A., Xu Z. Bradykinin prevents reperfusion injury by targeting mitochondrial permeability transition pore through glycogen synthase kinase 3beta. *J Mol Cell Cardiol.* 2006;40(5):708-16. PMID: 16516918 <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.01.024>
 11. Forster K., Paul I., Solenkova N., Staudt A., Cohen M.V., Downey J.M., Felix S.B., Krieg T. NECA at reperfusion limits infarction and inhibits formation of the mitochondrial permeability transition pore by activating p70S6 kinase. *Basic Res Cardiol.* 2006;101(4):319-26. PMID: 16604438 <http://dx.doi.org/10.1007/s00395-006-0593-4>
 12. Kovacs K., Toth A., Deres P., Kalai T., Hideg K., Gallyas F. Jr., Sumegi B. Critical role of PI3-kinase/Akt activation in the PARP inhibitor induced heart function recovery during ischemia-reperfusion. *Biochem Pharmacol.* 2006;71(4):441-52. PMID: 16337154 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2005.05.036>
 13. Mio Y., Shim Y.H., Richards E., Bosnjak Z.J., Pagel P.S., Bienengraeber M. Xenon preconditioning: the role of prosurvival signaling, mitochondrial permeability transition and bioenergetics in rats. *Anesth Analg.* 2009;108(3):858-866. PMID: 19224794 PMCID: PMC2748301 <http://dx.doi.org/10.1213/ane.0b013e318192a520>
 14. Kamada N., Kanaya N., Hirata N., Kimura S., Namiki A. Cardioprotective effects of propofol in isolated ischemia-reperfused guinea pig hearts: role of KATP channels and GSK-3beta. *Can J Anaesth.* 2008;55(9):595-605. PMID: 18840589 <http://dx.doi.org/10.1007/BF03021433>
 15. Feng J., Lucchinetti E., Ahuja P., Pasch T., Perriard J.C., Zaugg M. Isoflurane postconditioning prevents opening of the mitochondrial permeability transition pore through inhibition of glycogen synthase kinase 3beta. *Anesthesiology.* 2005;103(5):987-95. PMID: 16249673 <http://dx.doi.org/10.1097/00000542-200511000-00013>
 16. Juhaszova M., Zorov D.B., Kim S.H., Pepe S., Fu Q., Fishbein K.W., Ziman B.D., Wang S., Ytrehus K., Antos C.L., Olson E.N., Sollott S.J. Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest.* 2004;113(11):1535-49. PMID: 15173880 PMCID: PMC419483 <http://dx.doi.org/10.1172/JCI19906>
 17. Buchholz B., Kelly J., Muñoz M., Bernaténé E.A., Méndez Diodati N., González Maglio D.H., Dominici F.P., Gelpi R.J. Vagal stimulation mimics preconditioning and postconditioning of ischemic myocardium in mice by activating different protection mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2018;314(6):H1289-H1297. PMID: 29631370 <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00286.2017>
 18. Likhvantsev V.V., Landoni G., Levikov D.I., Grebenchikov O.A., Skripkin Y.V., Cherpakov R.A. Sevoflurane Versus Total Intravenous Anesthesia for Isolated Coronary Artery Bypass Surgery With Cardiopulmonary Bypass: A Randomized Trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2016;30(5):1221-7. PMID: 27431595 <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2016.02.030>
 19. Landoni G., Greco T., Biondi-Zoccai G, Nigro Neto C, Febres D, Pintaudi M, Pasin L, Cabrini L, Finco G, Zangrillo A. Anaesthetic drugs and survival: a Bayesian network meta-analysis of randomized trials in cardiac surgery. *Br J Anaesth.* 2013;111(6):886-96. PMID: 23852263 <http://dx.doi.org/10.1093/bja/aet231>
 20. Mozaffari M.S., Schaffer S.W. Effect of pressure overload on cardioprotection of mitochondrial KATP channels and GSK-3beta: interaction with the MPT pore. *Am J Hypertens.* 2008;21(5):570-5. PMID: 18437149 <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2008.25>
 21. Taliyan R., Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemiareperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3β. *J Recept Signal Transduct Res.* 2016;36(4):402-10. PMID: 26554621 <http://dx.doi.org/10.3109/10799893.2015.1108338>
 22. Talab S.S., Elmi A., Emami H., Nezami B.G., Assa S., Ghasemi M., Tavangar S.M., Dehpour A.R. Protective effects of acute lithium preconditioning against renal ischemia/reperfusion injury in rat: role of nitric oxide and cyclooxygenase systems. *Eur J Pharmacol.* 2012;681(1-3):94-9. PMID: 22342279 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.01.042>
 23. Селье Г. *Профилактика некрозов сердца химическими средствами* (пер. с англ.). М.: Медгиз, 1961. 208 с. [Selye H. *The Chemical Prevention of Cardiac Necroses*. New York: Ronald Press Co; 1958. 235 p.]
 24. Wu Q.L., Shen T., Ma H., Wang J.K. Sufentanil postconditioning protects the myocardium from ischemia-reperfusion via PI3K/Akt-GSK-3β pathway. *J Surg Res.* 2012;178(2):563-70. PMID: 22727941 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2012.05.081>
 25. Zhang Y., Irwin M.G., Wong T.M. Remifentanyl preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. *Anesthesiology.* 2004;101(4):918-23. PMID: 15448525 <http://dx.doi.org/10.1097/00000542-200410000-00017>
 26. Barillas R., Friehs I., Cao-Danh H., Martinez J.F., del Nido P.J. Inhibition of glycogen synthase kinase-3beta improves tolerance to ischemia in hypertrophied hearts. *Ann Thorac Surg.* 2007;84(1):126-33. PMID: 17588398 PMCID: PMC3444259 <http://dx.doi.org/10.1016/j.athoracsur.2007.02.015>
 27. Лихванцев В.В., Гребенчиков О.А., Борисов К.Ю., Шайбакова В.Л., Шапошников А.А., Черпаков Р.А., Шмелева Е.В. Механизмы фармакологического прекондиционирования мозга и сравнительная эффективность препаратов — ингибиторов гликоген-синтетазы-киназы — 3 бета прямого и непрямого действия (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология.* 2012;8(6):37-42. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-37> [Likhvantsev V.V., Grebenchikov O.A., Borisov K.Y., Shaibakova V.L., Shaposhnikov A.A., Cherpakov R.A., Shmeleva E.V. The Mechanisms of Pharmacological Preconditioning of the Brain and the Comparative Efficacy of the Drugs — Direct- and Indirect-Acting Glycogen Synthase Kinase-3β Inhibitors: Experimental Study. *General Reanimatology.* 2012;8(6):37-42. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-37>]

Cardioprotective effect of lithium chloride on a rat model of myocardial infarction

Oleg A. Grebenchikov^{1,2}, Alexander V. Lobanov³, Elvira R. Shayhutdinova⁴, Artem N. Kuzovlev², Anton V. Ershov^{2,5}, Valery V. Likhvantsev¹

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

² Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russian Federation

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

⁴ Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

⁵ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Corresponding author. Anton V. Ershov, salavatprof@mail.ru

Aim. To investigate the cardioprotective effect of lithium chloride *in vivo* on a rat model of myocardial infarction.

Methods. Twelve male Sprague-Dawley rats were randomly divided into two groups of six, with both groups modelling cardiac ischaemia and subsequent reperfusion. At the start of reperfusion, 30 mg/kg of 4.2% lithium chloride solution was intravenously administered via a catheter to the test group and 0.5 ml/kg of saline solution was administered to the comparison group. A control group comprised sham-operated rats that were not injected with any drugs other than anaesthesia during making skin incision. At the end of each experiment, the total area of the risk zone and areas of the infarction zone and left ventricle were calculated for each animal using a double-staining technique with 2% methylene blue and 1% triphenyltetrazolium chloride. A further series of experiments using 15 male Sprague-Dawley rats (third group) was performed to assess the protein content of glycogen synthase-3 β in myocardial tissue. The method was similar to that for the earlier experiments; however, at the end of the experiments, the hearts were removed and homogenised, following which the concentration of glycogen synthase-3 β was determined using electrophoresis.

Results. The group treated with lithium chloride showed a significant decrease in the area of the infarction zone compared with the group treated with saline. The difference in the indices between the two groups was >26% ($p < 0.05$).

Conclusion. This study demonstrated that 30 mg/kg of 4.2% lithium chloride solution, administered at the onset of reperfusion, exerted a protective effect on cardiomyocytes in a rat model of myocardial infarction by reducing the area of the infarction zone compared with that in the control group. This effect was probably mediated by an almost two-fold increase in the content of the phosphorylated form of glycogen synthase-3 β in the myocardium.

Keywords: cardioprotection; lithium chloride; myocardial infarction

Received 23 June 2019. Revised 6 August 2019. Accepted 7 August 2019.

Funding: The study did not have sponsorship.

Conflict of interest: Authors declare no conflict of interest.

Author contributions

Conception and study design: A.N. Kuzovlev

Data collection and analysis: O.A. Grebenchikov

Statistical analysis: A.V. Ershov

Drafting the article: A.V. Lobanov, E.R. Shayhutdinova

Critical revision of the article: V.V. Likhvantsev

All authors approved final version to be published.

ORCID ID

V.V. Likhvantsev, <https://orcid.org/0000-0002-5442-6950>

Copyright: © 2019 Grebenchikov et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 License.

How to cite: Grebenchikov O. A., Lobanov A.V., Shayhutdinova E.R., Kuzovlev A.N., Ershov A.V., Likhvantsev V. V. Cardioprotective effect of lithium chloride on a rat model of myocardial infarction. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2019;23(2):43-49 (In Russ.)