

Влияние триметазида на внутриклеточную концентрацию ионов Ca^{2+} в промиелоцитах линии HL-60 человека

Е.И. Асташкин, М.Г. Глезер, С.В. Грачев

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова. Москва, Россия

Trimetazidine effects on intracellular Ca^{2+} ion concentration in HL-60 human promyelocytes

E.I. Astashkin, M.G. Glezer, S.V. Grachev

I.M. Sechenov Moscow Medical Academy. Moscow, Russia

Цель. Изучить влияние антиишемического препарата триметазида на обмен ионов Ca^{2+} в предшественниках нейтрофилов и моноцитов человека — промиелоцитах линии HL-60.

Материал и методы. HL-60 клетки выращивали in vitro. Изменение внутриклеточной концентрации свободных ионов Ca^{2+} регистрировали с помощью флуоресцентного Ca^{2+} зонда — Фуры-2.

Результаты. Впервые на дифференцированных и недифференцированных HL-60 клетках было показано, что антиангинальный препарат триметазидин подавляет активность Ca^{2+} каналов плазматических мембран, регулируемых внутриклеточным кальциевым депо (store operated Ca^{2+} channels — SOC каналы). Принципиально важно, что триметазидин не вызывал выхода ионов Ca^{2+} из депо и не открывал SOC каналы, что отличает его от других известных ингибиторов таких каналов, например миконазола. Установлено, что в открытых SOC каналах триметазидин и миконазол влияют на одно и то же место связывания.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о наличии дополнительных видов активности триметазида, связанных с избирательной блокадой SOC-каналов. Это позволяет по-новому объяснить некоторые особенности действия препарата на электронеозбудимые клетки, в т.ч. фагоциты крови, а также его эффекты при ишемии миокарда.

Ключевые слова: триметазидин, HL-60 клетки, SOC каналы, регуляция внутриклеточной концентрации свободных ионов Ca^{2+} .

Aim. To investigate the effects of an anti-ischemic medication trimetazidine on Ca^{2+} ion metabolism in human leukocyte and monocyte precursors — HL-60 promyelocytes.

Material and methods. HL-60 cells were cultivated in vitro. Changes in intracellular free Ca^{2+} ion concentration were registered with fluorescent Ca^{2+} probes Fura-2.

Results. For the first time it was demonstrated for differentiated and non-differentiated HL-60 cells that an antianginal agent trimetazidine suppressed the activity of plasmatic membrane store operated Ca^{2+} channels (SOC channels). Importantly, trimetazidine did not cause Ca^{2+} ion release from the stores and did not open SOC channels, in contrast to other SOC channel inhibitors, e.g., miconazole. In open SOC channels, trimetazidine and miconazole targeted the same binding areas.

Conclusion. The results obtained demonstrate additional trimetazidine effects, linked to selective SOC channel blockade. It provides new potential explanations for trimetazidine effects on electro-inert cells (e.g. blood phagocytes) and its effects in myocardial ischemia.

Key words: Trimetazidine, HL-60 cells, SOC channels, regulation of intracellular free Ca^{2+} ion concentration.

Известно, что фагоциты крови играют важную роль в повреждении кардиомиоцитов (КМЦ), вызываемом ишемией/реперфузией [1,2]. В начальную фазу, в пораженную область сердца из крови поступают активированные нейтрофилы, которые секретируют высоко реакционно способные радикалы кислорода, протеолитические и деструктивные ферменты, содержащиеся в гранулах, а также широкий набор цитокинов и других биологических активных соединений [3,4]. В более отдаленные сроки через стенки капилляров в миокард проникают моноциты (предшественники фиксированных тканевых макрофагов). Они также способны образовывать и выделять радикалы кислорода, ковалентно модифицировать макромолекулы в миелопероксидазной реакции и более активно, по сравнению с нейтрофилами, фагоцитировать продукты распада поврежденных КМЦ [5]. Такое комплексное воздействие на КМЦ приводит к нарушениям структуры наружной и внутриклеточных мембран и других жизненно важных компонентов и органелл, что находит отражение в выраженных морфологических изменениях этих клеток, которые заканчиваются их гибелью по одному из двух механизмов: некрозу или апоптозу [5–7].

Различные виды функциональной активности фагоцитов, в т.ч. хемотаксис, секреция и фагоцитоз, эффективно регулируются в результате изменения внутриклеточной концентрации свободных ионов Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) [8–10]. Уникальной особенностью ионов Ca^{2+} является не только то, что они представляют собой классический пример вторичных посредников, но и тот факт, что значения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ интегрально регулируются практически всеми известными другими видами вторичных мессенджеров [11]. Однако, в отличие от электровозбудимых клеток, в качестве основных источников ионов Ca^{2+} для фагоцитов выступают как внеклеточная среда, концентрация ионов Ca^{2+} , в которой в 13 тыс. раз больше внутриклеточных значений $[\text{Ca}^{2+}]_i$, так и внутриклеточное кальциевое депо, морфологически связанное с эндоплазматическим ретикуломом. В кальциевом депо содержится до 10^{-4} М ионов Ca^{2+} по сравнению с 10^{-7} М в цитоплазме. Столь большие градиенты Ca^{2+} создаются и поддерживаются активным транспортом Ca^{2+} , который осуществляется Ca^{2+} -АТФазами плазматической мембраны (PMCA – plasma membrane Ca^{2+} -ATPase) и сарко/эндоплазматического ретикула (SERCA – Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase). В результате воздействия разнообразных внеклеточных стимулов происходит рецептор опосредуемая активация фосфолипазы С, которая гидролизует мембранные фосфатидил инозитолы, что приводит к образованию двух вторичных мессенджеров – диацил глицерина (DAG – diacyl glycerol), активирующего протеин киназу С, и инозитол трисфосфата (IP_3). Последний поступает в цитоплазму и взаимодействует со специфически-

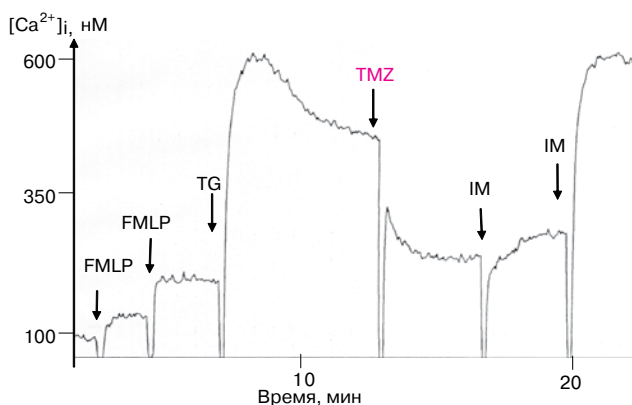
ми рецепторами, экспрессированными в мембране кальциевого депо. Рецепторы для IP_3 сами формируют ионные каналы, которые открываются под влиянием IP_3 , и по которым ионы Ca^{2+} выходят из депо в цитоплазму. Падение уровня ионов Ca^{2+} в депо сопровождается активацией Ca^{2+} каналов плазматической мембраны (депо регулируемые Ca^{2+} каналы – Store operated Ca^{2+} channel – SOC каналы) [11]. Механизмы, ответственные за перевод SOC каналов в открытое состояние, до конца не выяснены. Значение SOC каналов в физиологической активности фагоцитов вытекает из того факта, что именно эти каналы преобладают в их плазматических мембранах [8–10].

В настоящее время ведется интенсивный поиск соединений, которые способны снижать уровень $[\text{Ca}^{2+}]_i$ и, тем самым, тормозить различные виды функциональной активности фагоцитов крови, в т.ч. при ишемии и реперфузии сердца. В качестве такого потенциального соединения в работе был использован триметазидин (TMZ), который является активным компонентом лекарственного препарата Предуктал® МВ (Лаборатории Сервье, Франция). По химической структуре TMZ представляет из себя 1-[(2,3,4-триметоксифенил)метил]пиперазин (в виде гидрохлорида). Он относится к группе метаболических препаратов, которые защищают клетки сердца от гибели, вызываемой ишемией [12]. Антиишемическое действие TMZ, как полагают, связано с его способностью частично переключать с окисления длинноцепочечных свободных жирных кислот (ДЦ-СЖК) в митохондриях на окисление пирувата [13]. Важно отметить, что TMZ также действует на электронеозбудимые клетки крови, в которых окислительное фосфорилирование в митохондриях не является главным источником энергии: он подавляет агрегацию тромбоцитов [14] и блокировал поступление нейтрофилов в зону ишемии миокарда [15].

Целью настоящей работы было изучить влияние TMZ на изменение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в перевиваемых промиелоцитах человека, т.е. клетках – предшественниках нейтрофилов и моноцитов линии HL-60. Особое внимание уделялось исследованию точки приложения действия TMZ. В результате проведенной работы было впервые установлено, что TMZ избирательно воздействовал на активность SOC каналов плазматических мембран и не влиял на внутриклеточное кальциевое депо HL-60.

Материалы и методы

Тапсигаргин (TG), формил пептид (FMLP), иономицин (IM), дигитонин, этилен гликоль тетрауксусная кислота (EGTA – Ethylene Glycol tetraacetic acid), флуоресцирующий комплексон на ионы кальция (Фуру-2/AM), используемый для измерения внутриклеточной концентрации ионов кальция, форбол 12-миристенат 13-ацетат (PMA), дибутирил-сАМР и диметил сульфок-



Примечание: по оси ординат — $[Ca^{2+}]_i$ в нМ; по оси абсцисс — время в мин; FMLP — 1 мкМ; FMLP — 4 мкМ; TG — 1 мкМ; TMZ — 50 мкМ; IM — 0,1 мкМ; IM — 0,5 мкМ.

Рис. 1 Влияние FMLP, TG, TMZ и IM на $[Ca^{2+}]_i$ в дифференцированных HL-60 клетках.

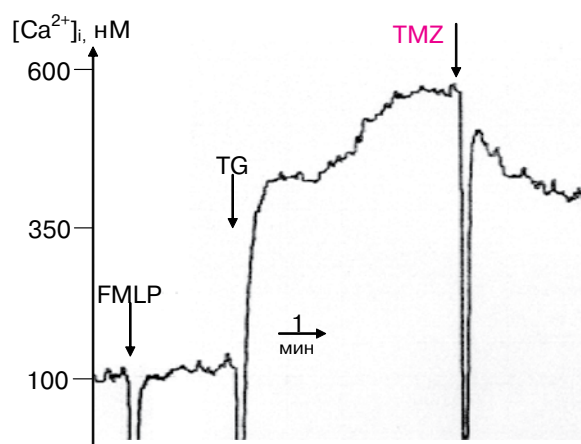
сид (DMSO — dimethyl sulfoxide) получали от фирмы Sigma.

Культуры клеток. Клетки линии HL-60 (Human (promyelocytic) leukemia cells — человеческие (промиелоцитарные) лейкозные клетки линии 60) росли при 37°C в CO₂ инкубаторе в пластиковых культуральных флаконах (75 см²) в среде RPMI 1640, содержащей 10 % эмбриональной сыворотки теленка, 5 мкг гентамицина/мл, 100 единиц пенициллина/мл, 100 мкг стрептомицина/мл и 2 мМ glutamina. Клетки пересевали в пропорции 1:5 каждые 2–3 дня. Дифференцировку HL-60 клеток индуцировали с помощью воздействия стандартных агентов — PMA или дибутирил-сАМР, с которыми клетки инкубировали 72 ч.

Измерение $[Ca^{2+}]_i$. Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный краситель Фура-2АМ. Из маточного раствора красителя (1 мМ) добавляли 4 мкл Фуры-2АМ к 2 мл суспензии (5×10^6 клеток/мл), которая находилась в термостатируемой кварцевой кювете с магнитной мешалкой. Суспензию инкубировали с красителем в течение 20–25 мин. Затем нагруженные красителем клетки дважды отмывали от внеклеточной Фуры-2АМ с помощью центрифугирования (5 мин 800g). Доводили концентрацию клеток средой Хенкса, содержащей буфер HEPES (50 мМ) pH 7.4, до 1 млн. в мл. Каждая измеряемая проба клеток имела объем 2 мл. Измерение флуоресценции образцов суспензий клеток проводили на спектрофлуориметре Hitachi F-3000 (длина волны возбуждения 340 нм и эмиссии 505 нм) или на спектрофлуориметре Shimadzu RF-1500 (длины волн возбуждения 340 и 380 нм, эмиссии — 505 нм). Концентрацию ионов Ca^{2+} в цитоплазме рассчитывали стандартными методами [16].

Результаты

На рисунке 1 представлены результаты, полученные на “дифференцированных” под влиянием фторболового эфира HL-60 клетках. Бактериальный трипептид — FMLP вызывал увеличение $[Ca^{2+}]_i$. Эти данные свидетельствуют о том, что в плазматической мембране таких HL-60 клеток экспрессированы рецепторы для FMLP. В результате взаимодействия FMLP с рецепторами происходит G-белок опосредуемая активация фосфолипазы C (PLC) и образование IP₃, который вызывает



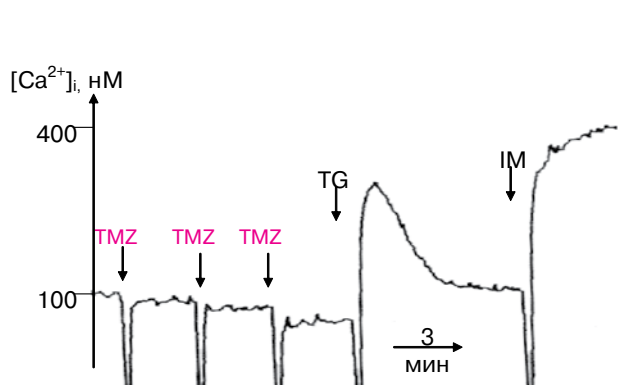
Примечание: FMLP — 4 мкМ; TG — 1 мкМ; TMZ — 20 мкМ.

Рис. 2 Влияние FMLP, TG и TMZ на $[Ca^{2+}]_i$ в недифференцированных HL-60 клетках.

выход ионов Ca^{2+} из депо в цитоплазму, что активирует SOC каналы плазматической мембраны [8–11]. Поскольку время жизни IP₃ ограничено, а его взаимодействие с рецепторами депо происходит дискретно, Ca^{2+} эффект FMLP обратим. Об этом свидетельствует тот факт, что обработка “дифференцированных” HL-60 клеток после FMLP селективным ингибитором Ca^{2+} -АТФазы кальциевого депо — TG, 1 мкМ [17], увеличивала значения $[Ca^{2+}]_i$, которые возрастали до максимума, а затем снижались до стационарного уровня. Ca^{2+} ответ HL-60 клеток на TG состоит из двух взаимосвязанных процессов: быстрого пассивного выхода Ca^{2+} по “leak” каналам кальциевого депо по градиенту концентрации в цитоплазму и более медленного транспорта Ca^{2+} по SOC каналам из внеклеточной среды в клетки. Ингибиторное действие TG на Ca^{2+} насос депо необратимо. Это иллюстрируется результатами опытов, в которых HL-60 клетки первоначально обрабатывались TG, а затем FMLP. В этом случае TG полностью подавлял кальциевый ответ клеток на FMLP. Следует отметить, что действие TG на клетки происходит в “обход” рецепторов плазматических мембран и образования вторичных мессенджеров [17].

TMZ, добавленный к “дифференцированным” HL-60 клеткам после TG, вызывал снижение $[Ca^{2+}]_i$ (рисунк 1). Этот ингибиторный эффект TMZ зависел от его концентрации и наблюдался в области 5–100 мкМ. Несмотря на снижение $[Ca^{2+}]_i$, вызываемое TMZ после TG, TMZ не влиял на кальциевый ответ, индуцированный в этих же клетках подвижным переносчиком ионов Ca^{2+} через мембрану — ионофорным антибитиком иономицином. “Дифференцированные” HL-60 клетки обладали высокой чувствительностью к действию иономицина, который оказывал влияние на $[Ca^{2+}]_i$ уже в концентрации 0,1 мкМ.

Таким образом, TMZ снижал содержание ионов Ca^{2+} в цитоплазме “дифференцированных” HL-60 клеток, индуцированное TG. Такой ингиби-



Примечание: TMZ – 10 мкМ; TMZ – 10 мкМ; TMZ – 10 мкМ; TG – 1 мкМ; IM – 0,3 мкМ.

Рис. 3 Влияние TMZ, TG и IM на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в дифференцированных HL-60 клетках.

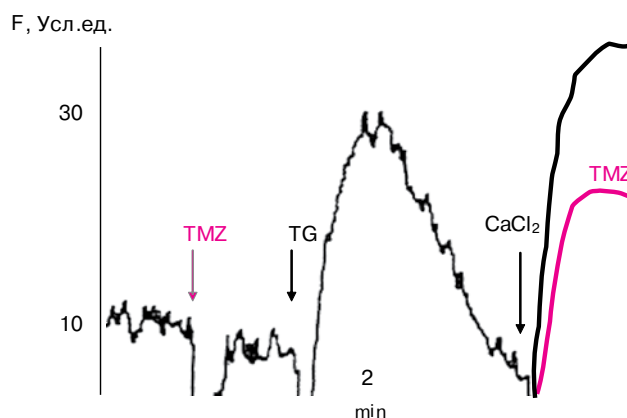
торный эффект TMZ может быть обусловлен либо подавлением выхода Ca^{2+} из депо, либо блокадой активности SOC каналов, либо влиянием на оба эти процесса.

Ингибиторный эффект TMZ после TG воспроизводился на недифференцированных HL-60 клетках (рисунок 2). Характерной особенностью этих клеток является наличие латентного периода времени, отражающего временную задержку между выходом Ca^{2+} из депо и транспортом Ca^{2+} по SOC каналам, индуцированным TG. Длительность этого периода варьировала от 55 до 70 с. Недифференцированные HL-60 клетки не отвечали на FMLP (4 мкМ). На основании результатов опытов (рисунок 2), было высказано предположение, что TMZ блокирует, главным образом, активность SOC каналов, опосредованно активированных TG. Как и в “дифференцированных” клетках, TMZ и в данном случае не подавлял Ca^{2+} ответ на иономицин.

На рисунке 3 представлены результаты экспериментов, когда TMZ добавляли к суспензиям “дифференцированных” HL-60 клеток первым. В этом случае TMZ не изменял базальный уровень ионов Ca^{2+} . Это позволяет предположить, что TMZ не влияет на внутриклеточное кальциевое депо и не активирует закрытые SOC каналы. После TMZ увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$, индуцированное TG, изменяется специфическим образом:

- снижается максимальная амплитуда Ca^{2+} ответа,
- изменяется форма ответа, который становится транзитным.

Эти результаты еще раз подтверждают предположение о способности TMZ подавлять активность SOC каналов. Чтобы убедиться в этом, были проведены серии опытов, когда HL-60 клетки помещались в инкубационную среду без ионов Ca^{2+} . В этих условиях TMZ (5–50 мкМ) не вызывал выхода ионов Ca^{2+} из внутриклеточных

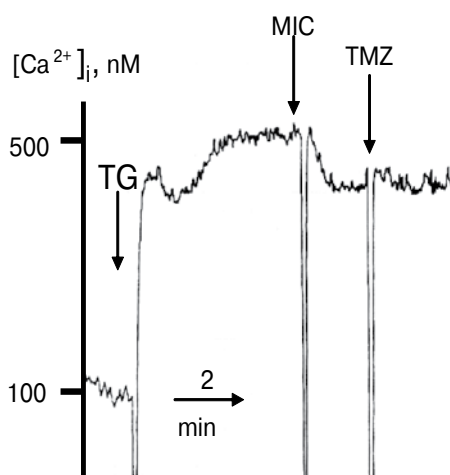


Примечание: начало кривой (контроль) – к суспензии клеток добавляли TG (1 мкМ), а затем CaCl_2 (1,5 мМ); продолжение кривой – к клеткам добавляли TMZ (20 мкМ), а затем TG и CaCl_2 .

Рис. 4 Влияние TMZ на Ca^{2+} ответы HL-60 клеток в среде без ионов Ca^{2+} и после их добавления.

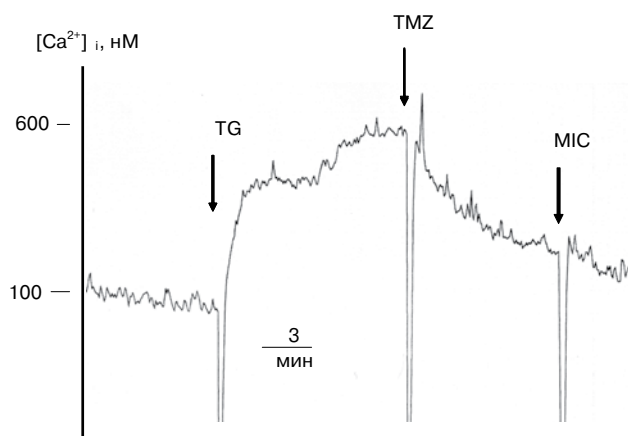
кальциевых депо и не подавлял последующий Ca^{2+} ответ на TG (1 мкМ) (рисунок 4). Более того, последующее добавление ионов Ca^{2+} в среду инкубации сопровождалось их транспортом по открытым SOC каналам в цитоплазму (верхняя кривая после TG на рисунке 4). Одновременно, TMZ выраженным образом тормозил этот транспорт (нижняя кривая после TG на рисунке 4). Эти результаты однозначно свидетельствуют о том, что TMZ не вызывает выхода ионов Ca^{2+} из кальциевого депо и, как следствие, не активирует SOC каналы плазматических мембран HL-60 клеток. При переходе SOC каналов в открытое состояние, например индуцированное TG, TMZ непосредственно взаимодействует с такими открытыми каналами, закрывает их и, тем самым, тормозит транспорт ионов Ca^{2+} через плазматическую мембрану в цитоплазму клеток.

Известно, что ряд производных имидазола, в т.ч. лекарственные препараты типа кетоконазола, миконазола и других производных этой группы, подавляют активность открытых SOC каналов [11]. На рисунке 5 представлено действие миконазола и TMZ на недифференцированные HL-60 клетки после TG. Миконазол снижает уровень $[\text{Ca}^{2+}]_i$, что хорошо согласуется с данными литературы, и полностью блокирует последующий Ca^{2+} ответ на TMZ. Если миконазол добавляли к суспензиям клеток после TMZ, то ингибиторный эффект миконазола исчезал (рисунок 6). Эти результаты показывают отсутствие аддитивности при комбинированном действии TMZ и миконазола и позволяют предположить, что оба агента имеют одну и ту же точку приложения в SOC каналах. В то же время, миконазол и другие препараты этой группы, в отличие от TMZ, вызывают выход Ca^{2+} из депо и активируют изначально закрытые SOC каналы. Возможно, что эти агенты ингибируют Ca^{2+} -АТФазу эндоплазматического ретикула [11].



Примечание: TG — 1 мкМ; MIC — 0,5 мкМ; TMZ — 15 мкМ.

Рис. 5 Комбинированное влияние миконазола (MIC) и TMZ на $[Ca^{2+}]_i$ в недифференцированных HL-60 клетках в среде с ионами Ca^{2+} .



Примечание: TG — 1 мкМ; TMZ — 15 мкМ; MIC — 0,5 мкМ.

Рис. 6 Комбинированное влияние TMZ и миконазола (MIC) на $[Ca^{2+}]_i$ в недифференцированных HL-60 клетках.

Обсуждение

Патогенез индуцированных ишемией/реперфузией необратимых повреждений, реперфузионных аритмий и оглушенности миокарда тесно связан с фагоцитами, поступающими в сердце из крови [4–7].

Изменение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} регулирует активацию фагоцитов и их функциональные свойства. В связи с этим избирательная блокада SOC каналов, количество которых преобладает в плазматической мембране фагоцитов, по-видимому, способно уменьшать стимуляцию этих клеток, снижать развитие воспалительных реакций и предупреждать гибель клеток-мишеней, в т.ч. КМЦ. Недавно было показано, что блокада транспорта ионов Ca^{2+} через плазматическую мембрану в нейтрофилы человека сопровождалась торможением их хемотаксиса и подавлением образования радикалов кислорода в опытах *in vitro* [8]. В опытах *in vivo* на крысах наблюдалось уменьшение экспрессии CD11b, а также менее выраженное повреждение клеток легких через 3 часа после нанесения травмы и геморрагического шока по сравнению с контролем [8].

В настоящей работе было впервые установлено, что TMZ эффективно снижал внутриклеточную концентрацию свободных ионов Ca^{2+} в клетках-предшественниках нейтрофилов и моноцитов человека — промиелоцитах линии HL-60 (рисунки 1 и 2). Более детальное исследование этого эффекта показало, что в отличие от большинства других видов ингибиторов, действие TMZ было обусловлено селективной блокадой активности SOC каналов, поскольку он не влиял на внутриклеточное кальциевое депо (рисунок 4). Эти данные позволяют предположить, что ингибиторный эффект

TMZ на агрегацию тромбоцитов [14], хемотаксис и активацию нейтрофилов [8,15], а также на реперфузионное повреждение миокарда, связанное с нейтрофилами [18], могут быть обусловлены блокадой SOC каналов в этих клетках. Более того, недавно описанное противовоспалительное действие TMZ, которое сопровождалось снижением в крови уровня С-реактивного белка [19], также возможно является следствием подавления активности SOC каналов в гепатоцитах, где и происходит синтез и секреция этого белка, поскольку последний процесс зависит от изменения $[Ca^{2+}]_i$.

Следует подчеркнуть, что SOC каналы существуют не только в плазматических мембранах клеток крови и других электроневоозбудимых клеток. Эти каналы были обнаружены в КМЦ, в которых они участвуют в Ca^{2+} -зависимой активации фактора транскрипции NF-AT (Nuclear Factor activated T cell — Ядерный фактор активированных Т клеток — фактор транскрипции группы генов), ответственного за гипертрофию миокарда [20]. В этой связи, подавление гипертрофии миокарда, вызываемой длительным гиперэнергетическим воздействием, под влиянием TMZ [21], по крайней мере, частично, может быть следствием ингибирования активности SOC каналов КМЦ.

Таким образом, в заключение следует отметить, что наряду с ингибированием четвертого фермента в цикле β -окисления — ДЦ 3-кетоацил коэнзим А тиолазы (3-КАТ) [12,13], TMZ обладает важными дополнительными видами активности, в т.ч. вызывает включение ЖК из цитоплазмы в фосфолипиды мембран [21], а также подавляет активность SOC каналов, что, очевидно, играет важную роль в цитопротективном действии этого агента.

Литература

1. Young LH, Ikeda Y, Scalia R, Lefer AM. Wortmannin, a potent antineutrophil agent, exerts cardioprotective effects in myocardial ischemia/reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 37–43.
2. Ikeda Y, Young LH, Lefer AM. Attenuation of neutrophil-mediated myocardial ischemia-reperfusion injury by a calpain inhibitor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H1421–6.
3. Mehta J, Dinerman J, Mehta P, et al. Neutrophil function in ischemic heart disease. *Circulation* 1989; 79: 549–56.
4. Hansen PR. Role neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1995; 91: 1872–85.
5. Lefer DJ, Granger DN. Oxidative stress and cardiac disease. *Am J Med* 2000; 109: 315–23.
6. Buja LM, Entman ML. Modes of myocardial cell injury and cell death in ischemic heart disease. *Circulation* 1998; 98: 1355–7.
7. Lucchesia BR. Modulation of leukocyte-mediated myocardial reperfusion injury. *Ann Rev Physiol* 1990; 52: 561–76.
8. Lee C, Xu DZ, Feketeova E, et al. Store-operated calcium channel inhibition attenuates neutrophil function and postshock acute lung injury. *J Trauma* 2005; 59(1): 56–63.
9. Chen LW, Shen AY, Chen JS, Wu SN. Differential regulation of Ca^{2+} influx by fMLP and PAF in human neutrophils: Possible involvement of store-operated Ca^{2+} channel. *Shock* 2000; 13(3): 175–82.
10. Hauser CJ, Fekete Z, Goodman ER, et al. CXCR2 stimulation primes CXCR1 [Ca^{2+}] i responses to IL-8 in human neutrophils. *Shock* 1999; 12(6): 428–37.
11. Putney JW. The pharmacology of capacitative calcium entry. *Mol Interv* 2001; 1(2): 84–94.
12. Stanley WC, Marzilli M. Metabolic therapy in the treatment of ischemic heart disease; the pharmacology of trimetazidine. *Fund Clin Pharmacol* 2003; 17: 133–45.
13. Lopaschuk GD, Barr R, Thomas PD, Dyck JRB. Beneficial effects of trimetazidine in ex vivo working ischemic hearts are due to a stimulation of glucose oxidation secondary to inhibition of long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ Res* 2003; 93: 33e–7.
14. Astarie-Dequeker C, Joulin Y, Devynck MA. Inhibitory effect of trimetazidine on thrombin-induced aggregation and calcium entry into human platelets. *J Cardiovascular Pharmacology* 1994; 23(3): 401–7.
15. Williams FM, Tanda K, Kus M, Williams TJ. Trimetazidine inhibits neutrophil accumulation after myocardial ischaemia and reperfusion in rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22: 828–33.
16. Асташкин Е.И., Смирнов О.Н., Гривенников И.А. и др. Верапамил подавляет активность потенциал-управляемых Ca^{2+} каналов и не влияет на активность Ca^{2+} каналов, регулируемых внутриклеточными Ca^{2+} депо, в РС-12 клетках. *ДАН* 1998; 362(6): 834–7.
17. Lytton J, Weslian M, Hanley MR. Thapsigargin inhibits the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca-ATPase family of calcium pumps. *J Biol Chem* 1991; 266(26): 17067–71.
18. Tritto I, Wang P, Kuppusamy P, et al. The Anti-Anginal Drug Trimetazidine Reduces Neutrophil-Mediated Cardiac Reperfusion Injury. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46(1): 89–98.
19. Di Napoli P. The metabolic approach to improving prognosis in ischemic heart disease. *Heart and Metabol* 2007; 36: 27–31.
20. Hunton DL, Lucches PA, Pang Yi, et al. Capacitative calcium entry contributes to Nuclear Factor of Activated T-cells nuclear translocation and hypertrophy in cardiomyocytes. *J Biol Chem* 2002; 277(10): 14266–72.
21. Tabbi-Anneni I, Lucien A, Grynberg A. Trimetazidine effect on phospholipid synthesis in ventricular myocytes: consequence in α -adrenergic signaling. *Fundam Clin Pharmacol* 2003; 17: 51–9.

Данная работа была поддержана Российским фондом фундаментальных исследований по гранту № 07–04–01452.

Поступила 15/05–2008