

Фармакологическая регуляция обмена энергетических субстратов в кардиомиоцитах при патологических состояниях, связанных с ишемией

Е.И.Асташкин, М.Г.Глезер

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

Pharmaceutical regulation of cardiomyocyte energetic substrate metabolism in ischemia-associated pathology

E.I. Astashkin, M.G. Glezer

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

Представлен анализ результатов основных исследований, посвященных изучению энергетического метаболизма в кардиомиоцитах (КМЦ) при физиологическом состоянии и ишемии. Особое внимание уделено механизмам регуляции и взаимосвязи между окислением главных энергетических субстратов, а также химическим соединениям и фармакологическим агентам, действующим на ключевые звенья энергетического обмена в условиях ишемии. Лекарственные препараты, которые частично тормозят окисление жирных кислот (ЖК) в миокарде при ишемии, оказывают цитопротективное действие. Важным с точки зрения безопасности их применения в клинических условиях является способность предупреждать аккумуляцию и пагубное воздействие на КМЦ ЖК и их продуктов.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, метаболизм миокарда, цитопротекция, энергетические субстраты.

The authors analyze the results of principal studies focused on cardiomyocyte (CMC) energy metabolism in normal physiological state and ischemia. Special emphasis is put on mechanisms of regulation and interaction of main energetic substrate oxidation processes, as well as on chemical substances and pharmaceutical agents affecting key stages of energetic metabolism in ischemia. Medications that partially reduce fatty acid (FA) oxidation in ischemic myocardium, demonstrate cytoprotective action. Their clinical safety is explained by preventing CMC accumulation and toxicity prevention of FT and their products.

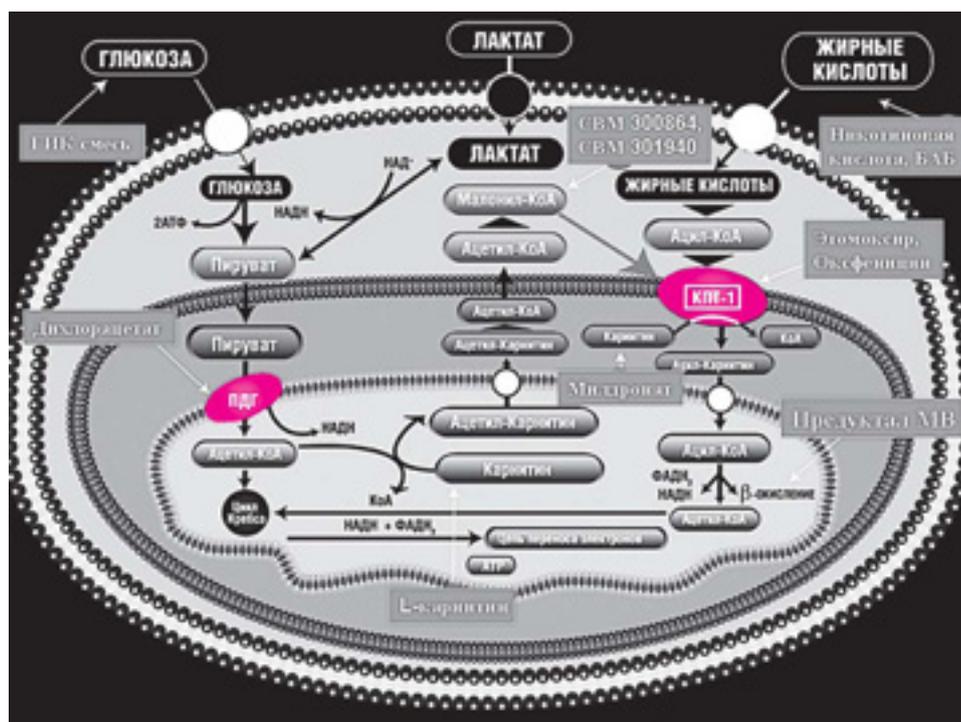
Key words: Ischemia, reperfusion, myocardial metabolism, cytoprotection, energetic substrates.

В последние годы достигнут существенный прогресс в понимании ключевых процессов энергетического обмена в клетках сердца, механизмов их регуляции, а также тех изменений, которые этот обмен претерпевает при патологических состояниях, связанных с ишемией и реперфузией [1]. Непрерывная механическая работа сердца требует значительных энергетических затрат. Миокард получает энергию в виде молекул аденозинтрифосфата (АТФ), которые синтезируются непосредственно в кардиомиоцитах (КМЦ) в результате окисления энергетических субстратов в митохондриях (МХ). В сердце значительный расход АТФ динамически уравновешен его синтезом. Расчеты показывают, что в физиологических условиях в сердце взрослого человека в

сутки образуется > 30 кг АТФ [2]. Без воспроизведения уровня АТФ в КМЦ хватает только для нескольких сокращений сердца. Для поддержания нормальной сократительной активности сердца необходимы: высокоэффективное кровоснабжение; потребление больших количеств кислорода (O₂); своевременная доставка энергетических субстратов; эффективное образование АТФ в МХ.

Источники энергетических субстратов для КМЦ

В качестве основных энергетических субстратов для сердца выступают длинноцепочечные жирные кислоты (ДЦ-ЖК), углеводы (глюкоза) и лактат [3], которые попадают в кровь и лимфу в результате



Примечание: в красных эллипсах приведены ключевые ферменты обмена углеводов и ЖК. ПДГ – расположена в матриксе МХ; КПТ-1 – локализована в наружной мембране МХ.

Рис. 1 Схема основных путей энергетического обмена в клетках сердца и влияние различных агентов на их ключевые этапы.

переваривания пищи, либо в незначительных количествах синтезируются в клетках различных органов и тканей организма, а затем транспортируются к сердцу. В результате окисления ЖК в сердце синтезируется около 2/3 от всего количества АТФ, 1/3 – дают окисление глюкозы и лактата [4,5].

Углеводные энергетические субстраты. В физиологических условиях в клетках сердца преобладает метаболизм глюкозы, т.к. ее концентрация в крови выше концентрации лактата. При необходимости производные глюкозы могут быть быстро мобилизованы из внутриклеточного глюкозного депо – полимера гликогена [3], однако емкость этого депо невелика.

Транспорт глюкозы в КМЦ. Глюкоза из крови транспортируется в цитоплазму КМЦ через плазматическую мембрану (сарколемму) пассивно (без затрат АТФ) по градиенту концентрации [3,4] с помощью белков-переносчиков – «глюкозных транспортеров» – GLUT1 и GLUT4. В обычных условиях за поступление глюкозы в клетки ответственен GLUT1, который экспрессирован в сарколемме. Молекулы GLUT4 находятся в цитоплазме в мембранно-ограниченных везикулах. При повышении уровня глюкозы в крови и соответствующем увеличении синтеза и секреции инсулина происходит слияние везикул, содержащих GLUT4, с плазматической мембраной клетки, что приводит к увеличению количества молекул переносчика в мембране и повышению активности его работы, в связи с чем GLUT4 часто называют инсулинозависимым переносчиком глюкозы [6].

Метаболические превращения глюкозы в КМЦ. В цитоплазме глюкоза подвергается последовательным ферментативным гликолитическим реакциям, в результате которых образуется пируват – анион пировиноградной кислоты (рисунок 1). При этом образуются лишь 2 молекулы АТФ, но именно они играют важную роль в поддержании градиента ионов (ионной стабильности) и целостности клеточной мембраны [3,4] при ишемии.

Реакции гликолиза не зависят от O_2 , однако судьба пирувата определяется им полностью. В условиях достаточного поступления O_2 , образовавшийся пируват поступает из цитоплазмы в МХ и ферментативно декарбоксилируется, превращаясь в ацетил-КоА, который в дальнейшем вступает в цикл Кребса.

Превращение пирувата в ацетил-КоА катализируется пируватдегидрогеназой (ПДГ), которая входит в состав ПДГ комплекса, расположенного в матриксе МХ [2,7,8]. Активность ПДГ является скоростью-лимитирующей ступенью на всем пути окисления глюкозы, в связи с чем этот фермент представляет особый интерес с точки зрения возможности фармакологической регуляции. В состав ПДГ комплекса помимо ПДГ входят ферменты, которые регулируют ее активность: киназы, осуществляющие специфическое фосфорилирование ПДГ (перенос фосфатных групп с АТФ на ПДГ), снижают ее ферментативную активность; фосфатазы ПДГ, ответственные за дефосфорилирование ПДГ (удаление фосфатных групп с ПДГ), напротив увеличивают ее

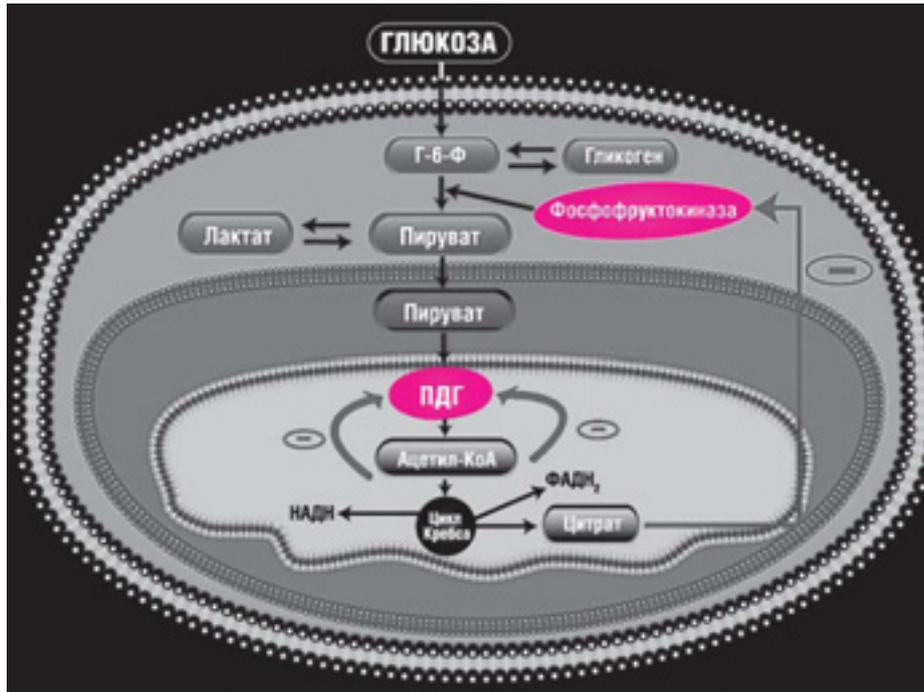


Рис. 2 Схема обмена глюкозы в клетках сердца, а также отрицательная регуляция его ключевых ферментов – ПДГ ацетил-КоА и фосфофруктокиназы цитратом.

активность. Активность этих ферментов также подвергается сложной регуляции. Например, фосфатазы ПДГ активируются ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} [7-9], а активность киназы ПДГ ингибируется пируватом и аденозиндифосфатом (АДФ), а повышается при увеличении отношения ацетил-КоА/КоА и отношения восстановленного никотинадениндинуклеотида к никотинадениндинуклеотиду (НАДН/НАД⁺). Таким образом, универсальными регуляторами активности ПДГ выступают, прежде всего, изменения отношений ацетил-КоА/КоА и НАДН/НАД⁺ в матриксе

МХ (рисунок 2). Увеличение этих отношений приводит к снижению активности ПДГ и наоборот [5].

Второй этап метаболизма глюкозы иногда называют «окислением глюкозы», хотя на самом деле при этом происходит окисление не глюкозы, а продукта, образовавшегося из глюкозы – пирувата, из которого в МХ образуется 38 молекул АТФ [5,7].

Таким образом, под окислением глюкозы следует понимать сумму 2 процессов – гликолитического превращения глюкозы в цитоплазме в пируват и последующего окисления пирувата в МХ.

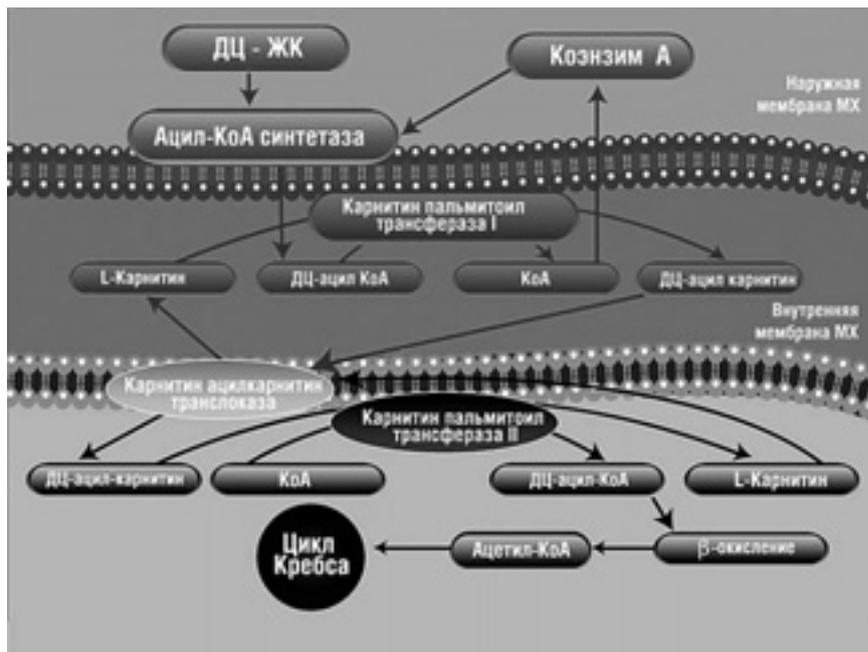
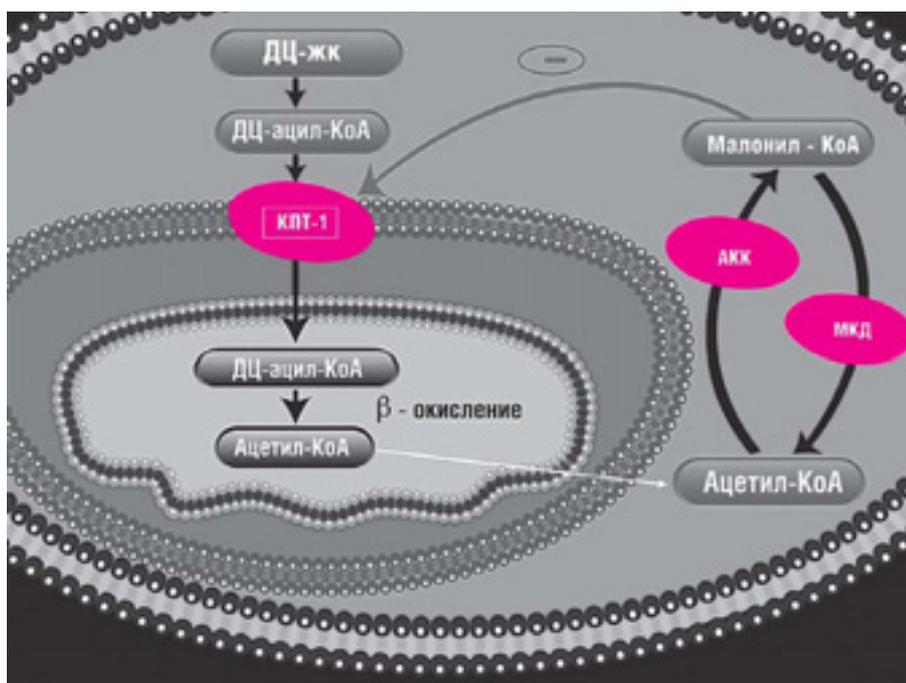


Рис. 3 Схема поступления ДЦ-ЖК в матриксе МХ (карнитиновый челнок) КМЦ.



Примечание: МКД – малонил-КоА декарбоксилаза.

Рис. 4 Схема отрицательной регуляции транспорта ДЦ ацил-КоА в МХ под влиянием эндогенного ингибитора КПП-1 – малонил-КоА в физиологических условиях.

Метаболические превращения лактата в КМЦ.

Лактат (анион молочной кислоты) в физиологических условиях поступает в КМЦ из плазмы крови и с помощью лактатдегидрогеназы (ЛДГ) также превращается в пируват, из которого под влиянием ПДГ в МХ образуется ацетил-КоА. В условиях же недостаточного поступления O_2 происходит превращение пирувата в лактат, который не утилизируется КМЦ, а секретируется в кровь [10]. Увеличение концентрации лактата в крови в отсутствие значительной физической нагрузки (ФН) при ишемии является первым признаком наступления гликолиза в КМЦ [7].

Свободные ЖК в роли энергетических субстратов

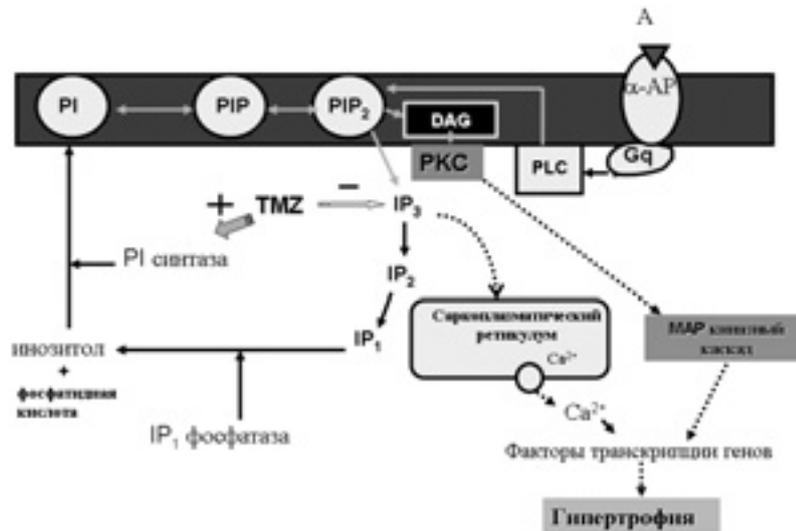
Липиды не растворимы в воде и транспортируются к различным органам и тканям из желудочно-кишечного тракта и печени в виде хиломикронов (ХМ) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛОНП). Под влиянием внеклеточных липаз из ЛОНП или ХМ освобождаются ЖК, которые могут поступать в КМЦ и/или депонироваться в жировых клетках (адипоцитах) в виде нейтральных триацилглицеридов. По мере необходимости, под влиянием внеклеточных факторов, происходят освобождение и секреция депонированных ЖК из адипоцитов в кровь. Этот процесс находится под двойной регуляцией – положительной (норадреналин, АКТГ и др.) и отрицательной (инсулин), воздействуя на которые можно изменять уровень ЖК в плазме крови и влиять на энергетический обмен в миокарде. Важно подчеркнуть, что чрезмерное освобождение ЖК

происходит при некоторых патологических условиях, например, сахарном диабете (СД) или при углеводном голодании.

ЖК условно делят на ДЦ-, средне- (СЦ) и короткоцепочечные (КЦ). ДЦ-ЖК, не растворимы в воде и транспортируются с током крови к клеткам-мишеням в виде комплекса с альбумином. Они являются основными энергетическими субстратами для КМЦ. Окисление олеата [С18:2] и пальмитата [С16:0] дает 60-80% энергии для синтеза АТФ в МХ клеток сердца здоровых людей [10,11].

Транспорт ЖК в КМЦ. Поступление ЖК в цитоплазму клеток сердца происходит пассивно по градиенту концентрации (также как и глюкозы) без расхода дополнительной энергии, т.е. без гидролиза АТФ, по нескольким механизмам: с помощью переносчика; по «водной поре»; в результате диффузии ДЦ-ЖК через липидный компонент сарколеммы; при эндоцитозе комплексов альбумин-ДЦ-ЖК, связанных с рецепторами альбумина [2,12], в связи с чем практически невозможно с помощью одного химического соединения затормозить этот процесс. Однако, полагают, что, воздействуя на молекулы переносчиков, можно в значительной степени снизить внутриклеточную концентрацию ДЦ-ЖК [12] и, тем самым, ингибировать их окисление.

Метаболические превращения ЖК в КМЦ. В цитоплазме ДЦ-ЖК АТФ-зависимым образом под влиянием ацилтиокиназы превращаются в водорастворимую «активную форму» – ацил-КоА, которая участвует во всех последующих метаболических реакциях, в т.ч. протекающих в МХ (рисунки 1 и 3).



Примечание: α -AP – альфа-адренорецептор; G_q – G-белок; PIP – фосфатидилинозитолфосфат; PIP₂ – фосфатидилинозитолдифосфат; IP₃ – инозитолтрифосфат; IP₂ – инозитолдифосфат; IP₁ – инозитолфосфат.

Рис. 5 Влияние TMZ на фосфатидилинозитольный/инозитолфосфатный цикл, связанный со стимуляцией α -адренорецепторов.

Поскольку ДЦ ацил-КоА не способен проникнуть из цитоплазмы через внутреннюю мембрану МХ, его перенос в матрикс МХ происходит с помощью специального механизма – «карнитинового челнока» (рисунок 3). Под влиянием фермента карнитин-пальмитоил трансферазы-1 (КПТ-1), локализованного в наружной мембране МХ, образуется комплекс ацил-карнитина. Этот комплекс транспортируется карнитиновым переносчиком – карнитин-ацилкарнитин транслоказой (КАКТ) через внутреннюю мембрану МХ в обмен на карнитин матрикса МХ. Таким образом, КАКТ осуществляет обмен ацил-карнитина цитоплазмы на карнитин матрикса МХ (антипорт ацил-карнитина на карнитин). В матриксе МХ ацильные остатки вновь переносятся с ацил-карнитина на КоА матрикса. Процесс этот катализируется ферментом КПТ-2. Образовавшийся ацил-КоА подвергается β -окислению в матриксе МХ [2,7-9].

В этой последовательности процессов реакция, катализируемая КПТ-1, является самой медленной и представляет собой удобную мишень для воздействия различных химических соединений с целью регуляции скорости окисления ЖК в МХ. Подавляя активность КПТ-1, можно существенным образом затормозить транспорт ДЦ-ЖК в МХ, а, следовательно, их последующее окисление. В качестве ингибитора КПТ-1 выступает малонил-КоА, который образуется в цитоплазме из ацетил-КоА в реакции, катализируемой ацетил-КоА-карбоксилазой (АКК). Именно малонил-КоА контролирует поступление ацильных остатков ДЦ-ЖК в МХ в физиологических условиях (рисунок 4) [8,9,11].

β -окисление ЖК в МХ. β -окисление ЖК в МХ происходит в четыре этапа, каждый из которых катализирует специфический фермент. В результате одного цикла β -окисления из ацил-КоА образуются

ацетил-КоА и ацил-КоА, длина которого меньше длины исходного ацил-КоА на два атома углерода [13]. Таким образом, при β -окислении ацил-КоА происходит многократное образование ацетил-КоА, который вступает в цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) и конкурирует с ацетил-КоА, образующимся при окислении пирувата.

При увеличении уровня ЖК в крови увеличивается их концентрация в цитоплазме КМЦ. Усиление окисления ЖК тормозит окисление пирувата в МХ, и вклад глюкозы в образование АТФ значительно снижается [14]. Нарушение окисления глюкозы в МХ из-за преобладания жирнокислотного пути в условиях ишемии имеет важные последствия, т.к. лежит в основе снижения способности миокарда противостоять ишемическому повреждению клеток.

Цикл Кребса. Ацетил-КоА, образующийся при окислении ДЦ-ЖК, глюкозы и лактата, выступает универсальным субстратом цикла Кребса, который является основным поставщиком НАДН и флавинадениндинуклеотида фосфата (ФАДН₂) – доноров электронов для дыхательной цепи. В конечном итоге, ацетил-КоА в цикле Кребса полностью окисляется до СО₂.

Дыхательная цепь. Компоненты дыхательной цепи формируют 4 ферментативных комплекса, в состав которых входят переносчики электронов – цитохромы, осуществляющие перенос высоко энергоемких электронов, получаемых от НАДН и ФАДН₂, по эстафете от комплекса к комплексу на О₂. При транспорте электронов по дыхательной цепи выделяется энергия, которая запасается в виде трансмембранной разности электрических потенциалов и значительного градиента протонов, возникающего в результате работы ферментативных Н⁺ насосов. В соответствии с хеми-осмотической теорией

рией Р. Mitchell энергия, запасенная в этих градиентах, используется ферментом АТФ-синтетазой для синтеза из молекул АДФ, неорганического фосфата и H^+ молекул АТФ, т.е. для процесса окислительно-фосфорилирования. В свою очередь, гидролиз высокоэнергетической (макроэргической) связи АТФ сопровождается выделением энергии, которая используется для различных АТФ-зависимых реакций. В результате осуществляется разного вида работа, в т.ч. происходит акт мышечного сокращения, создаются и поддерживаются ионные градиенты K^+ , Na^+ и Ca^{2+} соответствующими АТФ-азными насосами, а также другие виды физиологической активности [7,10,15].

Метаболизм энергетических субстратов в миокарде в норме и при ишемии

В аэробных условиях на долю свободных ЖК приходится от 60 до 80% АТФ, синтезируемого в МХ [9]. Однако, под влиянием внешних условий вид энергетического субстрата, используемого клетками сердца для синтеза АТФ в конкретных условиях, может динамически изменяться, что зависит от ряда факторов – состояния сердца, ФН, доступности O_2 , содержания питательных субстратов в крови, гормонального контроля [2,9,10]. Например, употребление пищи с преобладанием углеводов стимулирует секрецию инсулина и увеличивает поступление глюкозы в клетки сердца. Рост внутриклеточной концентрации глюкозы активирует гликолиз и приводит к образованию больших количеств пирувата, который подвергается окислению. Одновременно инсулин подавляет освобождение ЖК из адипоцитов, тем самым снижая их концентрацию в плазме крови и доступность для КМЦ. Следствием этого является падение их внутриклеточной концентрации, торможение β -окисления ЖК в МХ и, соответственно, образование ацетил-КоА из ЖК уменьшается. В результате обусловленные окислением ЖК отношения ацетил-КоА/КоА и НАДН/НАД⁺ снижаются, а активность ПДГ увеличивается. Это способствует превращению в МХ большего количества пирувата в ацетил-КоА, который успешно конкурирует за O_2 с ацетил-КоА, образующимся из ЖК. Таким образом, в КМЦ начинает преобладать окисление глюкозы, вклад которой в синтез АТФ может достигать 60-70%.

Обратная ситуация складывается при приеме жирной пищи, когда АТФ в клетках сердца образуется в основном в результате окисления ЖК. Возрастание концентрации ацил-КоА в КМЦ и усиление β -окисления приводят к образованию больших количеств ацетил-КоА, увеличению отношений ацетил-КоА/КоА и НАДН/НАД⁺. Вследствие этого снижается активность ПДГ и тормозится окисление глюкозы, а вклад ЖК в синтез АТФ существенно возрастает. Высокие концентрации цитрата, образующегося в цикле Кребса из ацетил-КоА, возникаю-

щего при β -окислении ЖК, подавляют гликолиз, ингибируя его ключевой фермент – фосфофруктокиназу (рисунок 2). В этой ситуации конкуренция за окисление в МХ приводит к торможению окисления глюкозы и лактата, а также к возрастанию окисления ЖК.

Возникает естественный вопрос – почему окисление ЖК в физиологических условиях не подавляет полностью окисление глюкозы и лактата и не доминирует на 100% в синтезе АТФ в МХ. Как уже упоминалось, скорость окисления ЖК контролируется физиологическим ингибитором КППТ-1 – малонил-КоА. Этот ингибитор образуется из ацетил-КоА в цитоплазме КМЦ, и процесс этот катализируется ферментом АКК. Малонил-КоА в исключительно низкой концентрации подавляет активность КППТ-1 и не позволяет ДЦ-ЖК бесконтрольно попадать в матрикс МХ, ингибируя окисление пирувата (рисунок 4) [1,2,8,9,11].

Таким образом, окисление энергетических субстратов в МХ клеток сердца при нормоксии находится в динамическом равновесии, что позволяет миокарду эффективно приспосабливаться к быстро меняющимся внешним условиям и сохранять энергетический обмен на уровне, требуемом для нормального функционирования.

При ишемии не происходит адекватного синтеза АТФ, падает его внутриклеточная концентрация, нарушается динамическое равновесие между окислением глюкозы и ЖК в МХ, активируется анаэробный гликолиз. Гидролиз больших количеств АТФ и образование лактата приводят к снижению внутриклеточного рН (рН_i) и накоплению аденозинмонофосфата (АМФ). Это сопровождается активацией АМФ-зависимой протеин киназы, которая фосфорилирует и тормозит АКК, что уменьшает образование малонил-КоА из ацетил-КоА. При уменьшении концентрации малонил-КоА, физиологического ингибитора КППТ-1, происходит потеря контроля над поступлением ЖК в матрикс МХ. В результате этого МХ начинают поглощать неадекватно большие количества ЖК [8]. Вследствие бесконтрольного образования из ЖК значительных количеств ацетил-КоА и НАДН, увеличиваются соотношения ацетил-КоА/КоА и НАДН/НАД⁺, что резко тормозит активность ПДГ и разобщает окисление пирувата от гликолиза. Таким образом, при ишемии возникает не просто дефицит АТФ, но происходит доминирование вклада менее эффективного окисления ЖК в синтез АТФ в МХ [5,9]. Известно, что при окислении ЖК на синтез эквивалентного количества АТФ расходуется примерно на 10%-12% больше молекулярного O_2 по сравнению с глюкозой. Другими словами, с точки зрения потребления O_2 ЖК не являются оптимальными субстратами, и это обстоятельство начинает играть важную роль при недостатке O_2 в условиях ишемии.

В качестве одного из главных проявлений нарушения энергетического обмена при ишемии выступает разобщение гликолиза от окисления глюкозы в МХ, когда из пирувата начинает образовываться лактат [3,5]. Увеличение его концентрации в крови является одним из ранних признаков активации гликолиза и наличия ишемии миокарда [7]. Анаэробный гликолиз — энергетически существенно менее эффективный путь образования АТФ по сравнению с окислительным фосфорилированием, происходящим в МХ. Даже при максимальной скорости анаэробный гликолиз может покрыть не более 5% от энергетических запросов сердца [9].

В связи с выраженной зависимостью различных путей синтеза АТФ от наличия O_2 и своевременного поступления энергетических субстратов в КМЦ при тяжелой ишемии происходит не просто падение уровня O_2 ниже критических значений, но и быстрое опустошение всех видов энергетических депо — уменьшается количество креатинфосфата, полностью расходуются запасы гликогена. Роль анаэробного гликолиза возрастает.

Недостаток O_2 тормозит транспорт электронов по дыхательной цепи. В результате меньше расходуется НАДН и ФАДН₂, последовательно тормозится цикл Кребса, снижается образование ацетил-КоА, падает скорость окисления ЖК и глюкозы. Все это лежит в основе уменьшения синтеза АТФ — «кислородное голодание на уровне дыхательной цепи».

При несбалансированном гидролизе АТФ во время ишемии происходит накопление АДФ и АМФ. АМФ последовательно превращается в аденозин, инозин, гипоксантин и ксантин, который, благодаря гидрофобности, легко проходит через сарколемму и покидает клетки [12]. Таким образом, при ишемии уменьшается содержание адениновых нуклеотидов в КМЦ, что еще в большей степени затрудняет синтез АТФ. Степень снижения уровня АТФ зависит от скорости наступления ишемии и ее тяжести.

При ишемии вследствие высвобождения при гидролизе АТФ значительного количества протонов (H^+) и накопления кислых гликолитических метаболитов (лактата и пирувата) развивается метаболический ацидоз, который служит одной из главных причин нарушения сократительной активности и повреждения миокарда [2, 4, 6, 7, 10, 12]. Компенсаторно для уменьшения внутриклеточного ацидоза и удаления избыточного количества H^+ из цитоплазмы происходит включение Na^+/H^+ обменника сарколеммы. Это ведет к увеличению внутриклеточной концентрации Na^+ , избыточное количество которого удаляется за счет резкого ускорения работы Na^+/Ca^{2+} обменника, но в результате увеличивается уровень внутриклеточного Ca^{2+} [4,7]. Снижение уровня АТФ подавляет активность Ca^{2+} АТФ-азы саркоплазматического ретикулаума и ионы Ca^{2+} выходят из депо в цитоплазму [7]. Перегрузка клеток ионами Ca^{2+} затрудняет фазу расслабления во время диастолы, нарушает сократи-

тельную активность. Одновременно высокие концентрации H^+ подавляют связывание ионов Ca^{2+} с тропонином [16], тем самым препятствуя акту мышечного сокращения. Важно, что в условиях ишемии значительные количества АТФ расходуются не на сократительную активность, а на восстановление и поддержание ионных градиентов в клеточных мембранах, что усугубляет снижение механической активности сердца. Следует подчеркнуть, что после реперфузии восстановление сокращения происходит только после нормализации образования АТФ и снижения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} до нормальных значений [10,16].

Роль липидов плазматических мембран в функциональной активности клеток сердца. Функциональная активность сердца тесно связана со структурной целостностью клеточных мембран и метаболизмом их липидных компонентов. Накопление ЖК и их метаболитов в цитоплазме КМЦ, которое происходит при гипоксии, оказывает цитотоксические эффекты вследствие их детергентно подобного действия на клеточные мембраны и, прежде всего, на сарколемму. Избыточное количество ДЦ-ЖК разобщает окислительное фосфорилирование в МХ, что дополнительно снижает синтез АТФ, нарушает сократимость и вызывает необратимые структурные изменения [17].

Все биологические мембраны построены по единому принципу и состоят из белковых и липидных компонентов. Именно липидный бислой, в состав которого входят ЖК, является главным препятствием на пути проникновения в цитоплазму полярных, водорастворимых соединений, в т.ч. ионов. Барьерные свойства мембранных липидов играют жизненно важную роль, поскольку определяют и поддерживают разность электрических потенциалов и ионные градиенты, возникающие в результате работы ионных насосов. Стабильность структурных и функциональных свойств биомембран в значительной степени зависят от динамического равновесия между включением ЖК в мембранные липиды и, прежде всего, в фосфолипиды (ФЛ), а также их высвобождения из липидов под влиянием разнообразных фосфолипаз. Нарушение барьерных свойств плазмалеммы, увеличение ее пассивной проницаемости для ионов K^+ , Na^+ и Ca^{2+} лежит в основе гибели клеток, происходящей по механизму коллоидно-осмотического лизиса — некроза.

Восстановление структуры плазматической мембраны КМЦ, репарация ее липидного бислоя с помощью химических агентов являются одними из перспективных фармакологических подходов для цитопротективного эффекта при ишемии.

Кардиотропные метаболически активные лекарственные препараты

В ряде экспериментальных исследований было показано, что частичное переключение с использования миокардом в качестве энергетического

субстрата ЖК на глюкозу защищает КМЦ от ишемического повреждения и улучшает эффективность работы сердца [4,7-10,18-21]. Лекарственные агенты, осуществляющие подобное переключение, получили название цитопротективных, антиишемических, антиангинальных препаратов с метаболическим механизмом действия (рисунок 1).

Усиление поступления глюкозы в клетки сердца и снижение уровня ЖК в крови достигаются в результате введения глюкозо-инсулино-калиевой смеси (ГИК). Инсулин не только тормозит освобождение ЖК из жировых клеток, но и ускоряет перенос глюкозы через сарколемму в цитоплазму клеток сердца. Сходным действием обладает и никотиновая кислота; отчасти положительное действие β -адреноблокаторов может быть обусловлено снижением окисления ЖК.

Следует подчеркнуть, что независимо от природы фармакологического агента, вызывающего уменьшение скорости окисления ЖК в МХ КМЦ при ишемии, происходит вторичное увеличение скорости окисления пирувата в результате активации ПДГ при снижении соотношений ацетил-КоА/КоА и НАДН/НАД⁺.

Проиллюстрируем это следующими примерами. Применение фармакологических препаратов (этоксир, оксфенилин и пергексиллин), подавляющих активность КППТ-1 – самого медленного фермента в цепи окислительных превращений ЖК в МХ, сопровождается снижением окисления ЖК в МХ [2,7,18-20]. Снижение активности фермента, катализирующего разрушение малонил-КоА (природного ингибитора КППТ-1) с помощью двух химических агентов – СВМ300864 и СВМ301940, увеличивает концентрацию малонил-КоА в цитоплазме клеток сердца крысы при ишемии, снижает активность КППТ-1, тормозит транспорт ДЦ-ЖК в МХ и ингибирует их β -окисление [22].

Лекарственный препарат милдронат подавляет синтез эндогенного карнитина в печени и, тем самым, снижает его содержание в КМЦ. В результате тормозится активность «карнитинового челнока», ответственного за перенос остатков ЖК в МХ, и снижается скорость их окисления [23-27].

К группе частичных ингибиторов β -окисления ЖК относится Предуктал® МВ (Лаборатории Сервье, Франция), который селективно уменьшает активность последнего фермента цикла β -окисления – ДЦ 3-кетоацил-КоА тиолазы (3-КАТ) [13].

Экзогенное введение L-карнитина и увеличение его концентрации в КМЦ ускоряет выведение из МХ ацетил-КоА, что снижает отношение ацетил-КоА/КоА в матриксе и стимулирует активность ПДГ. Увеличение в цитоплазме концентрации ацетил-КоА сопровождается образованием больших количеств малонил-КоА, который ингибирует активность КППТ-1 [28].

Другой подход связан с прямой активацией

ПДГ с помощью химических агентов. Например, дихлорацетат, стимулирующий ПДГ и увеличивающий окисление глюкозы, показал хорошие результаты в модельных экспериментах, а также на ограниченном числе пациентов со стенокардией. Однако концентрация, оказывающая этот эффект, была очень высокой и близка к токсической [2].

Таким образом, усиления окисления глюкозы в МХ при гипоксии и снижения метаболизма ЖК можно достичь самыми разными способами. Однако из всего перечня возможных подходов и соединений в настоящее время в клинической практике широко применяют только два лекарственных препарата – это Предуктал® МВ, действующим началом которого является триметазидин (TMZ), и милдронат с активной субстанцией – 3-(2,2,2-триметилгидразин) пропионат дигидратом.

Предуктал® МВ. В многочисленных экспериментальных и клинических работах описано прямое цитопротективное действие Предуктала® МВ при ишемии миокарда [7,19,20]. TMZ повышал резистентность КМЦ крыс к гипоксии и снижал выход маркерного фермента разрушенных клеток – лактатдегидрогеназы, при экспериментальной ишемии и реперфузии [29]. На модели изолированного перфузируемого сердца крысы и культивируемых КМЦ TMZ останавливал падение уровня АТФ, вызываемого ишемией, уменьшал накопление ионов Na⁺, Ca²⁺ в цитоплазме, снижал концентрацию H⁺ и подавлял закисление цитоплазмы [30,31]. Так он предупреждал развитие или снижал степень выраженности метаболического ацидоза – одного из основных механизмов клеточного повреждения. Важно, что TMZ оказывал эффект только при ацидозе и не менял функционирование нормальных клеток при нормальных значениях рН [30,31].

В дальнейшем в клинических работах было отмечено, что у лиц, получавших в течение 3 недель до аортокоронарного шунтирования Предуктал® (60 мг/сут.) во время операции отмечаются достоверно меньшие концентрации МВ-фракции креатинфосфокиназы (КФК) и тропонина (Тр) в крови (маркеры миокардиального повреждения), чем у лиц получавших плацебо [7,10].

Однако, несмотря на то, что факт защитного действия Предуктала® был установлен в многочисленных работах, механизм его цитопротекторного действия оставался неизвестным.

В середине 90-х гг. прошлого века было высказано предположение, что эффект Предуктала® носит сложный характер и может быть следствием влияния на энергетический обмен ЖК в МХ КМЦ [32]. Добавление TMZ к культуре КМЦ, выделенных из желудочков сердца крыс, в отсутствие экзогенных ЖК в качестве энергетического источника, снижало синтез АТФ. При этом в значительной степени усиливалась зависимость энергетического обмена от наличия в инкубационной среде глюкозы

[33,34]. TMZ тормозил окисление экзогенно добавленных ЖК в суспензиях МХ, изолированных из миокарда [29]. Стало ясно, что фермент, на который действует Предуктал® МВ, находится в МХ.

Ключевым моментом в изучении механизма действия Предуктала® МВ оказалось обнаружение его способности селективно ингибировать активность одного из 4 ферментов, участвующих в β -окислении ЖК — ДЦ 3-КАТ [13]. Концентрация TMZ, снижающая активность 3-КАТ на 50% (IC50), составляет 75 нмоль/л. Подавление TMZ β -окисления ЖК в условиях ишемии более чем в 2 раза увеличивало скорость окисления глюкозы. Однако сам TMZ не влиял на активность ферментов гликолиза и не оказывал прямого действия на активность ПДГ. Следует отметить, что как в МХ, выделенных из сердец [29], так и на целых изолированных сердцах крыс [13] TMZ не изменял активность ферментов цикла Кребса и не влиял на окислительное фосфорилирование.

На основании этих работ был сделан вывод о том, что защитный эффект Предуктала® МВ связан с вторичным увеличением сопряжения между гликолизом и окислением глюкозы за счет опосредованного роста активности ПДГ, вследствие снижения соотношения ацетил-КоА/КоА, которое происходит при подавлении β -окисления ЖК.

По мнению ряда авторов, предупреждение Предукталом® МВ развития метаболического ацидоза и его последствий, которые наступают в результате усиления сопряжения между гликолизом и окислением глюкозы, играет ведущую роль в антиишемическом действии этого препарата. В результате усиления окисления глюкозы и снижения окисления ЖК, МХ начинали поглощать значительное количество протонов, которые расходовались на синтез АТФ. Именно МХ являются основными и наиболее эффективными потребителями протонов, поэтому активация их работы способствует быстрому восстановлению рН до нормальных значений [5,20].

В связи с тем, что синтез АТФ при окислении глюкозы происходит с меньшим расходом O_2 по сравнению с ЖК, было сделано заключение о том, что Предуктал® МВ оптимизирует расход O_2 в условиях ишемии.

Таким образом, суть цитопротективного эффекта для лечения ИБС с помощью Предуктала® МВ сводится к частичному переключению с окисления в МХ одного вида энергетических субстратов на другой. Такое переключение наступает в результате прямого снижения под влиянием Предуктала® МВ скорости β -окисления ДЦ-ЖК и опосредованного возрастания окисления глюкозы, являющегося следствием увеличения активности ПДГ.

Милдронат. Вторым препаратом, который применяется в настоящее время в клинике для регуляции энергетического обмена КМЦ, является милд-

ронат — синтетический, структурный аналог гамма-бутиробетаина, т.е. того самого соединения, которое под влиянием фермента бутиробетаин гидроксилазы превращается в карнитин. Милдронат подавляет активность бутиробетаин гидроксилазы и тормозит синтез карнитина в печени, снижая его доступность для КМЦ [23,24]. Милдронат также конкурентно ингибирует реабсорбцию карнитина в почках и увеличивает его выведение из организма [35,36]. Принимая во внимание участие карнитина в переносе ДЦ ацильных остатков из цитоплазмы в МХ с помощью карнитинового челнока (рисунок 3), становится ясно, что милдронат подавляет транспорт ЖК в матрикс и, тем самым, снижает уровень ацил-КоА в МХ. В результате уменьшается скорость β -окисления ДЦ-ЖК и, как следствие, возрастает окисление глюкозы. На собаках и крысах в зоне ишемии миокарда милдронат улучшал энергетический обмен, увеличивал содержание АТФ и креатинфосфата, снижал метаболический ацидоз и уровень лактата [25,26]. Биохимические исследования позволяют заключить, что в основе действия милдроната на сердце лежит снижение содержания в КМЦ карнитина, вследствие чего происходит торможение поступления ЖК кислот в МХ и частичное переключение с окисления ЖК на более благоприятное в условиях ишемии окисление глюкозы [23-28, 35].

Последствия подавления поступления ЖК в МХ и снижения β -окисления для КМЦ. Пути их преодоления.

Аккумуляция в цитоплазме и МХ высоко биологически активных ЖК и их недоокисленных продуктов может быть чревата для жизнедеятельности КМЦ тяжелыми последствиями. Увеличение внутриклеточной концентрации ЖК способствует их включению в нейтральные триацилглицериды и ФЛ, накопление которых в цитоплазме клеток приводит к жировой дистрофии [36,37]. Независимо от природы воздействия, следствием которого является либо снижение активности КПП-1, либо торможение поступления ДЦ-ЖК в МХ, происходит гипертрофия миокарда [18,20], которая способствует развитию ишемии и нарушению функциональной активности миокарда. Именно из-за осложнений, связанных с развитием гипертрофии, не нашли широкого клинического применения этомоксир и оксфеницин [2].

Таким образом, проблема переключения с окисления ЖК в МХ на окисление глюкозы для предупреждения неблагоприятных последствий ишемии, трансформируется в не менее сложную проблему утилизации и предупреждения накопления ЖК в цитоплазме КМЦ с последующим их превращением в липиды. Другими словами, более хорошим лекарственным препаратом будет тот препарат, который не только способен переключать окисление энергетических субстратов в МХ в

нужном направлении, но и предупреждает аккумуляцию и пагубное воздействие на КМЦ ЖК и их продуктов.

Следует отметить, что существенное увеличение в цитоплазме КМЦ содержания ацил-КоА, ацетил-КоА, ацилкарнитина и недоокисленных продуктов ЖК, наступающее в результате подавления переноса ацильных остатков в МХ, создает благоприятные условия, необходимые для синтеза и накопления липидов. Все это может привести к стеатозу клеток. Как правило, такие изменения происходят в органах с быстрым метаболизмом липидов, прежде всего в печени. По этой причине осложнения, обусловленные нарушением доставки ДЦ-ЖК в МХ, подавлением их последующего окисления и активацией синтеза липидов, часто наблюдаются в печени. В качестве примера можно привести результаты последних опытов, полученные при изучении влияния субстанции милдроната – триметилгидразин пропионата (ТГП), на печени крыс [36,37]. Хроническое скормливание ТГП (20 мг/100 г/в день) в течение 3 и 6 недель крысам Sprague-Dawley приводило к системному дефициту карнитина, снижению содержания карнитина в печени на 65% и 75% соответственно, снижению метаболизма пальмитата и развитию через 6 недель жировой дистрофии печени (стеатоза). Причем, на 3 неделе в МХ печени опытных животных увеличивался окислительный метаболизм различных субстратов и возрастало β -окисление ЖК, но через 6 недель эти виды активности падали. Содержание ДЦ ацил-КоА возрастало в цитоплазме гепатоцитов и снижалось в МХ, что коррелировало с уменьшением активности КППТ-1 *in vivo* при воздействии ТГП. В клетках печени крыс, обработанных милдронатом, отмечалось увеличение количества пероксисом, в цитоплазме гепатоцитов и в плазме крови возрастало содержание ЛОНП, триглицеридов и ФЛ. Полагают, что ведущей причиной ухудшения метаболизма ЖК в гепатоцитах, а также возникновения стеатоза под влиянием милдроната является достаточно быстрое падение уровня карнитина в печени крыс. Очевидно, при длительном назначении милдроната необходимо контролировать потенциально возможные нарушения метаболизма липидов в печени. Особое внимание важно уделять сопутствующим факторам риска, в качестве которых выступают некоторые лекарственные препараты, алкоголизм, СД, ожирение и гипертрофия миокарда – ситуации, при которых наблюдаются нарушения обмена карнитина. Назначение милдроната в этих случаях может осложнить проблемы, связанные с дефицитом карнитина [2,36,37].

В настоящее время лишь в отношении Предуктала® МВ доступна дополнительная информация о влиянии на метаболизм ЖК в клетках сердца. Показано, что Предуктал® МВ не только подавляет

β -окисление ДЦ-ЖК в МХ, но также способствует их включению в липиды сарколеммы. Установлено, что TMZ увеличивает синтез мембранных ФЛ, в которых ЖК входят в состав глицерина по 1 и 2 положениям. Подобные результаты были получены как в опытах на культуре неонатальных КМЦ крыс *in vitro* [10] и на модели изолированного работающего перфузируемого сердца [12], так и в условиях *in vivo* на сердцах крыс [11,12]. Важно, что усиление синтеза ФЛ тесно связано с увеличением стабильности и восстановлением барьерных функций клеточных мембран. Весьма вероятно, что благодаря этому Предуктал® МВ препятствует накоплению ЖК в цитоплазме, предупреждает их цитотоксическое действие, а также снижает разобщающий эффект ДЦ-ненасыщенных ЖК на окислительное фосфорилирование в МХ.

Снижение концентрации ацетил-КоА и ЖК в цитоплазме предупреждает образование триацилглицеридов и ФЛ. Один из видов мембранных ФЛ – фосфатидил инозитольные ФЛ, играют важную роль в функциональной активности сарколеммы. Они участвуют во внутриклеточных сигнальных процессах, запускаемых с различных типов рецепторов сарколеммы, в т.ч. α -адренергических. Считается, что именно эти сигнальные пути тесно связаны с регуляцией обмена внутриклеточного Ca^{2+} , с активацией протеин киназы С (PKC) и развитием гипертрофии миокарда, которая возникает при хронической стимуляции α -адренорецепторов КМЦ. Адреналин, взаимодействуя с α -адренорецепторами сарколеммы, приводит к активации гетеротримерных G белков, которые связывают гуанозинтрифосфат (ГТФ) и диссоциируют на α -субъединицу-ГТФ и комплекс β - и γ -субъединиц. α -субъединица-ГТФ активирует фосфолипазу С (PLC), которая гидролизует фосфатидилинозитолдифосфат на инозитолтрифосфат (IP₃) и диацилглицерин (DAG). IP₃ связывается с рецепторами, которые находятся в кальциевом депо саркоплазматического ретикулума. Эти рецепторы являются кальциевыми каналами, по которым ионы Ca^{2+} пассивно выходят из просвета депо в цитоплазму. Затем IP₃ под влиянием фосфатаз превращается в ди- и монофосфаты, а также инозитол. Фермент фосфатидилинозитол синтаза (PI синтаза) катализирует превращение иноzitола в фосфатидилинозитол (PI), последовательное ферментативное фосфорилирование которого приводит к образованию фосфатидилинозитолфосфатов (IP). Эти превращения получили название фосфатидилинозитол-инозитолфосфатного цикла (PI-IP цикл) (рисунок 5).

Установлено, что TMZ активирует PI синтазу, в результате чего происходит увеличение синтеза PI и ускорение распада IP, в т.ч. и IP₃ [34], что, возможно, приводит к уменьшению выхода Ca^{2+} из кальциевого депо в цитоплазму. Снижение внутриклеточной концентрации свободных ионов Ca^{2+} препятствует акти-

вации Ca^{2+} зависимых факторов транскрипции, ответственных за синтез белков, принимающих участие в гипертрофии миокарда, вызываемой активацией α -адренорецепторов. Высказано предположение, которое в дальнейшем получило экспериментальное подтверждение в опытах на крысах с TMZ, что Предуктал® МВ способен снижать гипертрофию миокарда, вызываемую длительным воздействием биогенных аминов. Так, адреналин увеличивал включение ^3H меченного фенилаланина в суспензии КМЦ, что свидетельствует об увеличении синтеза белка. При введении TMZ степень увеличения синтеза белка, индуцированного адреналином, была достоверно (на $\sim 50\%$) меньше. Было сделано заключение, что TMZ способен снижать гипертрофию миокарда, вызываемую хроническим воздействием адреналина на α -адренергические рецепторы [38].

Способность Предуктала® МВ снижать накопление производных ЖК в цитоплазме КМЦ имеет очень важное значение, поскольку именно этот эффект, по-видимому, лежит в основе отсутствия у него побочных эффектов, связанных с неблагоприятными последствиями такого накопления.

Заключение

Повреждение клеток сердца при ишемии/реперфузии связано с изменением метаболизма энергетических субстратов. Вследствие недостаточного поступления O_2 в МХ КМЦ происходит падение уровня

АТФ, ускорение гликолиза, образование лактата, накопление H^+ , возникает ацидоз и нарушается сократимость миокарда.

Защитный эффект лекарственных препаратов, оказывающих цитопротективное действие, наступает в результате увеличения сопряжения между гликолизом и окислением пирувата в МХ, нейтрализации ацидоза, возрастания синтеза АТФ, восстановления гомеостаза ионов Na^+ и Ca^{2+} , стабилизации сарколеммы, оптимизации использования O_2 . Все это сопровождается улучшением сократительной активности миокарда.

Проблема переключения энергетического метаболизма с окисления ЖК в МХ на окисление глюкозы тесно связана с очень сложной проблемой утилизации и предупреждения накопления ЖК в цитоплазме КМЦ. Следовательно, более хорошим лекарственным препаратом будет тот, который не только переключает окисление энергетических субстратов в МХ в нужном направлении, но предупреждает аккумуляцию и пагубное воздействие на КМЦ ЖК и их продуктов.

В связи с тем, что в основе защитного действия антиангинальных метаболических препаратов лежат механизмы, которые в корне отличаются от механизмов действия традиционных лекарственных средств, вызывающих увеличение доставки O_2 в миокард или снижающих потребление АТФ КМЦ, их совместное применение сопровождается аддитивным эффектом.

Литература

- Lopaschuk GD. Pharmacologic rationale for trimetazidine in the treatment of ischemic heart disease. *Am J Cardiovasc Drugs* 2003; 3(Suppl.1): 21-6.
- Grynberg A. Effectors of fatty acid oxidation reduction: promising new anti-ischaemic agents *Curr Pharmaceutical Design* 2005; 11(4): 489-509.
- Opie LH. *The heart: physiology, from cell to circulation*. Philadelphia: Lippincott-Raven 1998.
- Opie LH, King LM. Glucose and glycogen utilization in myocardial ischemia: changes in metabolism and consequences for myocyte. *Mol Cell Biochem* 1998; 180: 3-26.
- Opie LH, Lopaschuk GD. Fuels, aerobic and anaerobic metabolism In: Opie L.H., editor. *Heart physiology, from cell to circulation*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams, Wilkins 2004; 306-54.
- Bell GI, Kayano T, Buse GB, et al. Molecular biology of mammalian glucose transporters *Diabetes Care* 1990; 13: 198-208.
- Stanley WC. Partial fatty acid oxidation inhibitors for stable angina *Expert Opin Investig Drugs* 2002; 11(5): 615-29.
- Lopaschuk G. Regulation of carbohydrate metabolism in ischemia and reperfusion *Am Heart J* 2000; 139: S115-9.
- Stanly WC. Diabetes and ischaemic heart disease: essential role for metabolic therapies. *Coronary Artery* 2005; 16(Suppl.1): S1-12.
- Stanley WC, Marzilli M. Metabolic therapy in the treatment of ischaemic heart disease: the pharmacology of trimetazidine. *Fund Clin Pharmac* 2003; 17(2): 133-45.
- Lopaschuk GD, Barr R, Thomas PD, Dyck JR. 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: e33-7.
- Stremmel W, Pohl L, Ring A, Herrmann T. A new concept of cellular uptake and intracellular trafficking of long-chain fatty acids. *Lipids* 2001; 36: 981-9.
- Kantor PF, Lucien A, Kozak R, Lopaschuk GD. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ Res* 2000; 86: 580-8.
- Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. Regulation of glucose uptake by muscle. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate and alloxan diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J* 1964; 93: 652-65.
- Essop MF, Opie LH. Metabolic therapy for heart failure. *Eur Heart J* 2004; 25: 1765-8.
- Benzi RH, Lerrch R. Dissociation between contractile function and oxidative metabolism in postischemic myocardium: attenuation by ruthenium red administered during reperfusion. *Circ Res* 1992; 71: 567-76.
- Wojtezak L, Schonfeld P. Effect of fatty acid on energy coupling process in mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1183: 41-57.
- Lee L, Horowitz J, Frenneaux M. Metabolic manipulation in ischaemic heart disease, a novel approach to treatment. *Eur Heart J* 2004; 25: 634-41.
- Marzilli M. Cardioprotective effects of trimetazidine: a review. *Curr Med Res Opin* 2003; 19(7): 661-72.
- Rupp H, Zarain-Herzberg A, Maisch V. The use of partial fatty acid oxidation inhibitors for metabolic therapy of angina pectoris and heart failure. *Herz* 2002; 27: 621-36.
- Глезер М.Г., Асташкин Е.И. Предуктал – новое направление в цитопротекции миокарда. *Клин геронт* 1998; 1: 1-9.

22. Dyck JRB, Cheng JF, Stanley WC, et al. Malonyl coenzyme A decarboxylase inhibition protects the ischemic heart by inhibiting fatty acid oxidation and stimulating glucose oxidation. *Circ Res* 2004; 94: e78-84.
23. Simkhovich BZ, Meirena DV, Khagi KhB, et al. Effect of new structural analog of gamma-butyrobetaine-3-(2,2,2-trimethylhydrazine)propionate (THP) on carnitine level, carnitine-dependent fatty acid oxidation and various indices of energy metabolism in the myocardium. *Vopr Med Khim* 1986; 32: 72-6.
24. Simkhovich BZ, Shutenko ZV, Meirena DV, et al. g-3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate (THP) – a novel gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor with cardioprotective properties. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 195-202.
25. Kirimoto T, Nobori K, Asaka N, et al. Beneficial effect of MET-88, a gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor, on energy metabolism in ischaemic dog hearts. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1996; 331: 163-78.
26. Hayashi Y, Kirimoto T, Asaka N, et al. Beneficial effect of MET-88, a gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor in rats with heart failure following myocardial infarction. *Eur J Pharmacol* 2000; 395: 217-24.
27. Hayashi Y, Ishida H, Hoshiai M. MET-88, a gamma-butirobetain hydroxylase inhibitor, improves cardiac SR Ca²⁺ uptake activity in rats with congestive heart failure following myocardial infarction. *Moc Cell Biochem* 2000; 209: 39-46.
28. Calvani M, Reda E, Arrigoni-Martelli E. Regulation by carnitine of myocardial fatty acid and carbohydrate metabolism under normal and pathological conditions. *Basic Res Cardiol* 2000; 95: 75-83.
29. Fantini E, Demaison L, Sentex E, et al. Some biochemical aspects of the protective effect of trimetazidine on rat cardiomyocytes during hypoxia and reoxygenation. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 949-58.
30. Renaud JF. Internal pH, Na⁺, and Ca²⁺ regulation by trimetazidine during cardiac cell acidosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 1988; 1(6): 677- 86.
31. El Bannani H, Bernard M, Baertz D. Changes in intracellular sodium and pH during ischemia-reperfusion are attenuated by trimetazidine: comparison between low- and zero-flow ischemia. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 688-96.
32. Sentex E, Sergiel JP, Lucien A, Grynberg A. Trimetazidine increases phospholipid turnover in ventricular myocyte. *Mol Cell Biochem* 1997; 175: 153-62.
33. Tabbi-Anneni I, Lucien A, Grynberg A. Trimetazidine effect on phospholipid synthesis in ventricular myocytes: consequences in a-adrenergic signaling. *Fundam Clin Pharmacol* 2003; 17: 51-9.
34. Tabbi-Anneni I, Helies-Toussaint C, Morin D, et al. Prevention of heart failure in rats by trimetazidine treatment: a consequence of accelerated phospholipid turnover? *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 304: 1003-9.
35. Калвиньш И.Я. Милдронат – механизм действия и перспективы его применения. Москва Grindex 2001; 25 с.
36. Spaniol M, Brooks H, Auer L, et al. Development and characterization of an animal model of carnitine deficiency. *Eur J Biochem* 2001; 268: 1876-87.
37. Spaniol M, Kaufmann P, Beier K, et al. Mechanisms of liver steatosis in rats with systemic carnitine deficiency due to treatment with trimethylhydraziniumpropionate. *J Lipid Research* 2003; 44: 144-53.
38. D'hahan N. Trimetazidine: potential mechanisms of action in hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmac* 1999; 35: 500-6.

Поступила 06/10-2006