

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**М.А. Медведев, М.В. Егорова, С.А. Афанасьев,
Д.С. Кондратьева, Т.Ю. Реброва, И.В. Суходоло**

РОЛЬ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ КАРДИОМИОЦИТОВ

Томск
Издательство СибГМУ
2018

УДК 612.173:612.123

ББК 28.707

Р 680

Роль жирных кислот в адаптивных реакциях кардиомиоцитов : монография / М. А. Медведев, М. В. Егорова, С. А. Афанасьев, Д. С. Кондратьева, Т. Ю. Реброва, И. В. Суходоло – Томск : Изд-во СибГМУ, 2018. – 146 с.

ISBN 978-5-98591-139-8

Монография посвящена исследованию роли свободных жирных кислот в процессах адаптации сердца. Рассматривается гипотеза о сигнальном значении повышения уровня свободных жирных кислот в крови при стрессорных и патологических воздействиях, как о триггерном механизме, запускающем адаптивные процессы на всех уровнях: субклеточном, клеточном, органном и уровне целого организма. Экспериментальное обоснование данной гипотезы обусловлено результатами обширного анализа литературы, а также собственных биохимических, морфологических исследований на разных сроках прямого и опосредованного повреждения сердца.

Работа рекомендована для широкого круга специалистов: физиологов, патофизиологов, биохимиков, кардиологов, биологов.

Рецензенты:

Савченков Ю.И. – доктор медицинских наук, профессор кафедры физиологии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого.

Афанас Л.И. – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, врио директора ФГБНУ «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН, г. Новосибирск.

УДК 612.173:612.123

ББК 28.707

Утверждено и рекомендовано к печати Редакционно-издательским советом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

ISBN 978-5-98591-139-8

© Медведев М.А., Егорова М.В., Афанасьев С.А.,
Кондратьева Д.С., Реброва Т.Ю., Суходоло И.В., 2018
© Издательство СибГМУ, 2018

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	– аденозиндифосфат
АК	– арахидоновая кислота
АКК	– ацетил-КоА-карбоксилаза
АКС	– ацил-КоА-синтетаза
АКО	– ацил-КоА-оксидаза
АМФ-ПК	– АМФ-активируемая протеинкиназа
АНТ	– транслоказа адениновых нуклеотидов
АТД	– атрактилозид
БФБ	– бромфенацилбромид
ДК	– дыхательный контроль
ЖК	– жирные кислоты
3-КАТ	– 3-кетואцил-КоА-тиолаза
кАтр	– карбоксиатрактилат
КМЦ	– кардиомиоциты
КоА	– коэнзим А, связанная форма
КоА-SH	– коэнзим А, свободная форма
КПТ1	– карнитинпальмитоилтрансфераза 1
КФ	– креатинфосфат
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
ЛЖ	– левый желудочек
МСТ	– переносчик монокарбоксильных кислот
МКД	– малонил-КоА-декарбоксилаза
МХ	– митохондрии
НАДН (NADH)	– никотинамидадениндинуклеотид
Олиго	– олигомицин
ПГК	– программируемая гибель клеток
ПДГ	– пируватдегидрогеназный комплекс
ПК	– пальмитиновая кислота
ПОД	– пероксидаза
РНК	– рибонуклеиновая кислота
СДГ	– сукцинатдегидрогеназа
СЖК	– свободные жирные кислоты
СПР	– саркоплазматический ретикулум
ТГ	– триглицериды
ФВ	– фракция выброса (левого желудочка)

ФК	– функциональный класс
ФАДН ₂ (FADH ₂)	– флавинадениндинуклеотид;
цикло А (CsA)	– циклоспорин А (cyclosporin A)
ЦТК	– цикл трикарбоновых кислот
ЩФ	– щелочная фосфатаза
СyP-D	– cyclophilin D (циклофилин Д)
FABPpm; FAT/CD36; FATP 1/6	– белки-транспортеры жирных кислот
FACS	– ацил КоА-синтаза жирных кислот
GLUT	– glucose transporter
HIF-1	– hypoxia inducible factor (фактор, индуцируемый при гипоксии)
MPTP	– mitochondrial permeability transition pore (митохондриальная пора повышенной проницаемости)
P _i C	– phosphate carrier (переносчик неорганического фосфата)
PPAR (α,β,γ)	– члены суперсемейства ядерных лиганд-активированных рецепторов, транскрипционные регуляторы метаболизма липидов
UCP	– uncoupling proteins, митохондриальные разобщающие белки, принадлежащие к семейству анионных переносчиков
V ₃	– скорость дыхания в состоянии 3 при максимальном синтезе АТФ в присутствии АДФ или протонофора
V ₄	– скорость дыхания в состоянии 4 в отсутствие синтеза АТФ или протонофора
VDAC	– voltage dependent anion channel (потенциал зависимый анионный канал, порин)
VEGF	– фактор роста эндотелия сосудов
Δμ _H ⁺	– электрохимический потенциал

ВВЕДЕНИЕ

Жизненные процессы в организме могут существенно замедляться, вплоть до их временного прекращения, в условиях, выходящих далеко за пределы, оптимальные для функционирования организма. Подавление жизнеобеспечения функций является адаптивной реакцией для выживания в условиях, стрессовых для организма и вызывающих физиологические изменения, способные полностью или частично компенсировать воздействие стресса [Sokolova T.N., 2011]. Метаболической основой одной из стратегий адаптации к стрессу – стратегии толерантности – становится ингибирование метаболических процессов, снижение расхода энергии и потребления кислорода, минимизация функциональной активности [Кулинский В.И., Ольховский И.А., 1992]. Такие изменения позволяют переживать неблагоприятные условия, сохраняя клетки от преждевременной гибели, до нормализации условий внешней или внутренней среды.

Сравнительный анализ физиологических и биохимических процессов, ответственных за реализацию гипометаболических состояний выявил сходство между изменениями в организме млекопитающих при гибернации, на ранних стадиях онтогенеза и изменениями, наблюдаемыми при тяжелых патологических клинических случаях [Roth E., Oehler R., 2010]. При этом снижение метаболизма в первых двух случаях рассматривается как физиологический процесс, является адаптивной и обратимой реакцией, в то время как в клинике подобные изменения рассматриваются как патологические и, как правило, считаются необратимыми. С точки зрения заверщенного, хронического процесса, скорее всего, это действительно так. Однако в динамике развития патологического процесса возможно и развитие схожих адаптационных механизмов, судя по общности физиологического ответа в столь разных ситуациях. Известно, что при воздействии любого сильного стрессорного воздействия наблюдается неспецифичный, на уровне организма, ответ. При этом так же хорошо известно, что физиологическая реакция на раздражитель определяется не только силой стрессорного воздействия, но и временем. Одинаковые по силе, но разные по времени, воздействия вызывают качественно разные ответные реакции [Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уко-

лова М.А., 1979]. Чрезвычайно важным, с этой точки зрения, является изучение ответной реакции организма в динамике развития патологического процесса. Помимо этого, адаптация определяется так же и условиями, в которых находился организм к моменту возникновения стрессорного воздействия: сочетание стрессовых факторов может обуславливать проявление эффекта кросс-адаптации, когда адаптация к какому-либо раздражителю, изменяет чувствительность к другим, качественно близким раздражителям.

Гипоксия – чрезвычайно широко распространенное явление, возникающее как в условиях дефицита кислорода во внешней среды, так и в результате самых разных патологий, приводящих к снижению доставки кислорода к клетке до уровня, недостаточного для поддержания ее функции, метаболизма и структуры. Основой практически любой патологии на клеточном уровне является гипоксия [Лукьянова Л.Д., 2011]. Млекопитающие, и прежде всего человек, хотя и имеют систему анаэробного образования энергии, связанную с гликолизом, относятся к строгим аэробам, что определяет исключительную важность проблемы адаптации к гипоксии.

Сложная динамика реакции организма на гипоксию и адаптацию к ней, вовлеченность в этот процесс широкого спектра функционально-метаболических систем, объясняют причину того, что до настоящего времени остаются нерешенными многие патогенетические аспекты адаптации к гипоксии, а также вопросы, связанные с антигипоксической защитой [Лукьянова Л.Д., 2011]. Так, например, до последнего времени оставался открытым вопрос о том, как быстро происходит формирование срочной резистентности в условиях гипоксии, как быстро активируются механизмы, индуцирующие процесс срочной и долговременной адаптации, что является триггерным механизмом этих процессов.

Неспецифические механизмы патогенеза включают в себя увеличение содержания в плазме крови свободных жирных кислот (СЖК), активацию сывороточной и внутриклеточных фосфолипаз, нарушение проницаемости мембран, и, в конечном счете, гибель клетки. Неспецифические механизмы адаптации включают в себя нейрогуморальные процессы перестройки метаболизма целого организма [Мерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988], и внутриклеточные, которые подразумевают изменение метаболизма органа на уровне клетки и, в частности, на уровне митохондрий (МХ), с переходом энергосинтеза

на альтернативные, более быстрые и мощные процессы [Лукьянова Л.Д., 2011].

Одной из важнейших проблем является исследование функциональных возможностей миокарда в патологических условиях и изучение малоизвестных механизмов повышения устойчивости миокарда к гипоксии, так как, несмотря на мощный арсенал современной медицины, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний занимает лидирующие позиции. При недостаточном кровоснабжении или диабете функциональные расстройства в миокарде связаны с накоплением токсичных промежуточных продуктов окисления липидов в сердце [Brindley D.N. et al., 2010; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. СЖК и продукты их деградации стимулируют неспецифическую проницаемость митохондриальных мембран, что, в свою очередь, приводит к разобщению окислительного фосфорилирования [Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005; Кожина О.В., 2007; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Однако, в экстремальных природных условиях (гипоксия, гипо- и гипертермия и др.) повышенная проницаемость внутренней мембраны МХ и супрессия системы окислительного фосфорилирования являются временными и носят защитно-приспособительный характер [Brand M.D. et al., 2002]. Вполне вероятно, что эти механизмы используются для сохранения параметров клетки и ее выживания и при адаптации к патологическим факторам (не случайно участки миокарда со сниженной функциональной активностью получили название «гибернирующий миокард»). Многочисленные работы свидетельствуют о физиологической роли повышения протонной проницаемости внутренней мембраны МХ, как защиты от накопления и повреждающего действия активных форм кислорода (АФК), образующихся в МХ [Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005; Кожина О.В., Каратецкова М.П., Самарцев В.Н., 2006; Кожина О.В., 2007; Самарцев В.Н., Кожина О.В., 2008; Skulachev V.P., 1997; Korshunov S.S. et al., 1998; Murphy M.P. et al., 2003]. Разобщение в МХ связывают с протонофорным действием и циркуляцией СЖК через специфические белки внутренней мембраны МХ [Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005; Кожина О.В., Каратецкова М.П., Самарцев В.Н., 2006; Самарцев В.Н., Кожина О.В., 2008; Murphy M.P. et al., 2003; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009].

Изменения энергетического метаболизма, как при сердечной недостаточности, так и при сахарном диабете в настоящее время достаточно хорошо изучены, тем не менее, нет четкого представления о

метаболических процессах, протекающих в кардиомиоцитах при сочетанном развитии этих состояний. При этом неоднократно наблюдалась парадоксально высокая ишемическая резистентность миокарда (*in vivo* и *in vitro*) у взрослых животных с небольшим сроком стрептозотоцин-индуцированного диабета [Nawata T., Takahashi N., Opie T., 2002; Chen H., Shen W.L., Wang X.H., 2006; Дубилей Т.А. и др., 2007]. Причины этого феномена могут быть связаны с особенностями энергетического метаболизма при формировании данных патологий в процессе их развития.

Накопление триглицеридов в миокарде, изменение интенсивности окисления ЖК и индуцированное ими разобщение в МХ сердца в современной литературе рассматриваются и с позиции защиты миокарда от накопления вредных продуктов обмена и поддержания энергетического метаболизма в кардиомиоцитах при сердечной недостаточности и сахарном диабете [Brindley D.N. et al., 2010; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. С этой точки зрения представляется важным оценить вклад СЖК в процессы адаптации сердца при развитии ишемического и диабетического повреждения миокарда, с позиции их защитного действия.

ГЛАВА 1

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ. ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ

Эффективность кислород-зависимых процессов биологического окисления и образования энергии обеспечивается поддержанием на системном, органном и клеточно-молекулярном уровнях кислородного гомеостаза. Его целью является поддержание условий функционирования окислительных ферментов и синтеза энергии, а также всех без исключения энергозависимых процессов – ионной асимметрии, возбудимости мембран, сократительной функции, синтетических процессов, прежде всего синтеза белков и других. Нарушение кислородного гомеостаза приводит к возникновению многих заболеваний, поскольку любое патологическое состояние прямо или косвенно связано с нарушением кислородного режима организма и его регуляции [Лукьянова Л.Д., 2011; Semenza G.L., 2011, 2012].

Гипоксия приводит к целому комплексу функционально-метаболических нарушений, в основе которых лежат нарушение доставки кислорода в клетку, снижение синтеза энергии, уменьшение уровня внутриклеточного АТФ и, как следствие, подавление энергозависимых процессов. Признаки угнетения наиболее значимых энергозависимых функционально-метаболических процессов проявляются при снижении внутриклеточного содержания АТФ на 10–20%, а при падении уровня АТФ на 30% наблюдается их полное подавление [Лукьянова Л.Д., 2000].

Адаптация к гипоксии – это системная ответная реакция, направленная на формирование механизмов, способствующих поддержанию и сохранению кислородного гомеостаза в условиях дефицита кисло-

рода. Различают две стадии формирования механизмов адаптации [Лукьянова Л.Д., 2011]:

1) *индукции адаптации*, т. е. период генерализованного ответа на раздражитель, включающий специфический и неспецифические механизмы. При неспецифической стресс-реакции происходит мобилизация регуляторных центров дыхательной и сердечнососудистой систем, транспорта кислорода, а также внутриклеточных механизмов, связанных с синтезом энергии. Мобилизация специфических для гипоксии компенсаторных реакций, которые сопровождаются экспрессией мРНК, специфических белков и генов в ответ на саму гипоксию, обеспечивают формирование срочной защитной реакции организма;

2) *формирования геном-зависимых реакций долгосрочной адаптации*, которая начинается с момента первого гипоксического воздействия и характеризуется, увеличением толерантности (резистентности) организма к гипоксии. В зависимости от силы первичного воздействия в этот период активируются множественные соподчиненные сигнальные системы, мобилизующие функциональные резервы организма, и составляющие основу для формирования отсроченных геном-зависимых защитных эффектов долгосрочной адаптации. При многократном или длительном гипоксическом воздействии на организм формируется отсроченная или долговременная адаптация с переходом кислородного гомеостаза на новый уровень регуляции. На этом этапе наблюдается снижение вентиляции и температуры тела, уменьшение скоростей дыхания, увеличение концентрации и сродства гемоглобина к кислороду, изменение кинетических свойств ферментов окислительного метаболизма, которым сопутствует увеличение эффективности окислительного фосфорилирования, ремоделирование сосудов (ангиогенез), увеличение гликолиза и транспорта и многое другое.

Исследования действия разных режимов гипоксических тренировок на формирование срочной резистентности организма, проведенный сотрудниками лаборатории Лукьяновой Л.Д., привели к установлению принципиально новых аспектов в механизме адаптации к гипоксии [Лукьянова Л.Д., 2011]:

1. Срочная резистентность к гипоксии достигает максимальных значений в первые 30 мин любого гипоксического воздействия. Степень ее выраженности прямо зависит от тяжести гипоксического воздействия.

2. Индукция срочной резистентности происходит быстрее при применении безынтервальных форм гипоксии сравнительно с интервальными.
3. Фактором, определяющим формирование срочной резистентности, является гипоксический период, а не период реоксигенации (который задерживает и угнетает этот процесс); более того, оксигенированные интервалы ослабляют реакцию организма на гипоксию.
4. Динамика формирования неспецифической резистентности организма при применении разных режимов курсовой гипокситерапии носит фазный характер, зависящий от типа гипоксического воздействия.

Механизмы срочной адаптации. Роль митохондрий

В последнее десятилетие активно изучаются, помимо известного механизма с участием гипоталамо-гипофизарно-адреналового комплекса, другие срочные сигнальные механизмы, формирующиеся как на системном, так и на клеточном уровнях. Особый интерес представляет изучение специфического белкового фактора, индуцируемого при гипоксии – HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor), играющего ведущую роль в формировании адаптации к гипоксии [Semenza G.L., 2000, 2011, 2012; Stroka D.M., Burkhardt T., Desballerts I., 2001].

HIF-1 представляет собой гетеродимерный редокс-чувствительный белок, состоящий из двух субъединиц: индуцибельно экспрессируемой кислородочувствительной субъединицы HIF-1 α и конститутивно экспрессируемой субъединицы HIF-1 β . В нормоксических условиях содержание HIF-1 α поддерживается на очень низком уровне, так как большая его часть подвергается протекающей в цитозоле протеосомальной деградации [Lukyanova L.D. et al., 2009]. При гипоксии создаются предпосылки стабилизации и аккумуляции HIF-1 α , индукции транскрипционных процессов, транслокации HIF-1 α в ядро, его гетеродимеризации с HIF-1 β с последующими конформационными изменениями, образованием транскрипционного активного комплекса (HRE), экспрессией HIF-1-зависимых генов-мишеней и синтезом защитных адаптивных белков. Активность HIF-1 α регулируется путем гипоксической трансдукции сигнала, который основан на уникальной кислородзависимой посттрансляционной модификации; установлена экспоненциальная зависимость содержания

HIF-1 α от концентрации кислорода [Stroka D.M., Burkhardt T., Desballerts I., 2001]. Экспрессия HIF-1 α при гипоксии происходит во всех тканях, при любых гипоксических режимах.

Вопрос о механизмах, индуцирующих сигнальные реакции в условиях гипоксии, в настоящее время остается открытым. В научной литературе широко распространена точка зрения, что триггерами, запускающими весь этот каскад сигнальных процессов, являются свободнорадикальные реакции, которые необходимы для формирования срочной резистентности к гипоксии. Генерируемые во время гипоксического воздействия или в постгипоксический период свободные радикалы могут вызывать инактивацию реакций, ответственных за протеосомальную деградацию HIF-1 α , что и способствует его аккумуляции [Lukyanova L.D. et al., 2011]. Наряду с этим, однако, существуют работы, доказывающие прямо противоположное: однократное гипоксическое воздействие в режиме preconditionирования способствует подавлению свободно-радикальных процессов и может защищать клетку от окислительного стресса. Применение физиологических режимов гипоксии (например, гипоксического preconditionирования) не только не приводит к активации свободнорадикальных процессов в ранний постгипоксический период, но даже подавляет интенсивность этого процесса [Lukyanova L.D., Germanova E.L., Kirova Yu.I., 2011]. Тем не менее, в этих условиях происходит формирование срочной резистентности и увеличение уровня HIF-1 α . Следовательно, свободнорадикальные процессы не являются фактором, инициирующим индукцию этих механизмов.

Претендентами на роль активаторов сигнальных путей кислород-независимого синтеза HIF-1 α могут выступать цитокины. В норме их содержание очень низкое, а их уровень увеличивается в ответ на гипоксию. Гипоксические воздействия способствуют образованию ядерного фактора роста NF- κ B, который индуцирует транскрипцию провоспалительных цитокинов TNF (фактор опухолевого роста), провоспалительных интерлейкинов IL-1, IL-6, а также противовоспалительного интерлейкина IL-10, который подавляет экспрессию провоспалительных цитокинов. В гипоталамусе, центральной нервной системе, периферических тканях цитокины могут регулировать энергетический баланс и активировать митохондриальную функцию через зависимость от фосфорилирования активацию PGG-1 [Лукьянова Л.Д., 2011].

Список сигнальных механизмов, участвующих в срочной адаптации, постоянно расширяется. Для нервной системы, по-видимому, особое значение в процессах адаптации имеет глутаматергическая система сигнализации. Несомненно, большое значение в процессах срочной адаптации могут играть аденозиновые и пуринергические рецепторы. Принципиальным вопросом остается изучение взаимодействия этих рецепторов с симпато-адреналовой системой. Остается открытым вопрос о триггерном механизме, запускающем эти сигнальные процессы, которые, по-видимому, являются, по сути, лишь вторичными мессенджерами.

Функция митохондрий в клетке при адаптации к гипоксии

Кислородный гомеостаз и его регуляция у высших организмов напрямую связаны с работой сложнейшей регуляторной внутриклеточной системы, локализованной в митохондриях. Функциональный статус митохондрий в клетке, отличающий их от других органелл, определяется тремя главными особенностями их структурно-морфологической организации:

- 1) наличием ферментов дыхательной цепи, предназначенных для аэробного синтеза энергии;
- 2) наличием собственного генома, что обеспечивает митохондриям преимущество в скорости обновления функционально наиболее значимых белков ферментов дыхательной цепи;
- 3) наличием мобильности (способности митохондрий к подвижности: делению, слиянию, перемещению в клетке), что дает им возможность концентрироваться вблизи энергопотребляющих структур.

Около структур с высокими энергетическими запросами митохондрии формируют митохондриально – эндоплазматическую сеть. Образование такого митохондриального ретикулума способствует диффузии энергетических метаболитов через систему метаболических каналов к различным участкам клетки, а также поддержанию стабильных значений мембранного потенциала. Таким образом, морфология МХ и их биоэнергетическая функция неразрывно связаны [Лукьянова Л.Д., 2008].

В процессе эволюции митохондрии оказались вовлеченными в тесные внутриклеточные, межклеточные и системные взаимодействия. С сигнальной функцией МХ связаны такие процессы, как рост,

старение, реакция на температуру, апоптоз, секреция инсулина в бета-клетках, формирование адаптивных реакций. Эффект «физиологического разобщения» в митохондриях выполняет функцию термогенератора при термогенезе. Установлены роль МХ в биогенезе, генетическая функция митохондриальной ДНК, а также связь митохондриальной дисфункции с самыми различными патологиями. МХ играют роль регуляторов и координаторов работы внутриклеточных Ca^{2+} -зависимых сигнальных путей. Существует система регуляторного взаимодействия между МХ и эндоплазматическим ретикулумом, а также между МХ и рецепторами внешней мембраны, каскадом PI3K, eNOS, гуанилилциклазой, протеинкиназой G (PKG) и работой митохондриальных K^{+} -каналов [Лукьянова Л.Д., 2008, 2011]. Совсем недавно было установлено, что интермедиаты цикла Кребса сукцинат и альфа-кетоглутарат, помимо их участия в электротранспортной функции митохондриальной дыхательной цепи, являются специфическими лигандами двух рецепторов, относящихся к семейству G-белок-сопряженных рецепторов, соответственно GPR91 и GPR99 [He W. et al., 2004]. Поступая из клеток в кровь, эти субстраты выполняют регуляторную функцию сигнальных молекул. Сукцинат-зависимый рецептор GPR91 идентифицирован более чем в 20 тканях. Рецептор специфически активируется только сукцинатом, который инициирует также его интернализацию [He W. et al., 2004]. Имеются экспериментальные доказательства, что через рецепторы GPR91 и GPR99 может осуществляться метаболическая связь окислительных процессов в МХ с адренергической и холинергической системами [Кондрашова М.Н., 2000; Хундрякова Н.В. и др., 2008; Kondrashova M.N., Doliba N.M., 1989]. Показано, что стимуляция физиологических функций адреналином включает избирательную активацию сукцинатдегидрогеназы, а сукцинат, в свою очередь, является сигнальной молекулой, стимулирующей выделение адреналина и норадреналина. Аналогичная взаимосвязь обнаружена между α -кетоглутаратом и ацетилхолином [Хундрякова Н.В. и др., 2008; Kondrashova M.N., Doliba N.M., 1989].

Таким образом, митохондриальная дыхательная цепь через сигнальные молекулы вовлечена не только в систему внутриклеточной, но и трансмембранной и межклеточной сигнализации, а сами митохондрии функционируют, как активные сигнальные органеллы и играют ключевую роль в важнейших регуляторных физиологических процессах, в том числе, в формировании приспособительных реакций

организма на ранней стадии гипоксического воздействия [Лукьянова Л.Д., 2008].

Традиционно считалось, что нарушение синтеза энергии при гипоксии является результатом инактивации этого фермента цитохромоксидазы – кислород-зависимого фермента терминального участка митохондриальной дыхательной цепи. Однако цитохромоксидаза имеет очень высокое сродство к кислороду и низкие значения $K_m O_2$ (10^{-6} – 10^{-8}). Это означает, что фермент может сохранять активность в среде, содержащей следовые количества кислорода. В то же время известно, что даже в аноксических условиях содержание кислорода в крови составляет не менее 10^{-5} М. Следовательно, теоретически инактивация цитохромоксидазы не только в гипоксических, но даже в преданоксических условиях не должна происходить. И, действительно, в литературе давно уже приводятся факты, свидетельствующие о том, что нарушения энергетического обмена начинаются гораздо раньше, чем достигается критическая концентрация кислорода, приводящая к снижению его потребления, т. е. задолго до уменьшения активности цитохромоксидазы [Лукьянова Л.Д., 2011]. Все это предполагает иные лимитирующие участки аэробного синтеза энергии при гипоксии.

Лукьяновой Л.Д. с коллегами была выдвинута концепция, получившая впоследствии полное экспериментальное подтверждение, согласно которой причиной снижения синтеза энергии при гипоксии являются изменения активности митохондриальных ферментов не на терминальном, а на субстратном участке дыхательной цепи [Лукьянова Л.Д., Германова Э.Л., Копаладзе Р.А., 2009]. В гипоксических условиях происходит регуляторное репрограммирование работы дыхательной цепи: обратимое подавление электротранспортной функции комплекса I – основного пути образования энергии в нормоксических условиях, и срочная компенсаторная активация митохондриального комплекса II. Этот процесс направлен на использование энергетически более эффективного в условиях гипоксии сукцинатоксидазного пути окисления субстратов, благодаря чему предупреждаются или ослабляются нарушения синтеза АТФ и параметров аденيلاتного пула, а также жизненно важных функций организма, устраняется характерный для гипоксии ацидоз, и, как следствие, увеличивается резистентность организма к дефициту кислорода. При гипоксии происходит активация сукцинатдегидрогеназы и увеличение вклада сукцинатоксидазного окисления в клеточное дыхание, которое

может достигать 70–80% [Лукьянова Л.Д., 2000, 2008]. Переключение путей окисления митохондриальных субстратов сопутствует практически любым формам гипоксии или ишемии и включается в них в качестве обязательного элемента, как базисный молекулярный (биоэнергетический) механизм. Активация в этих условиях сукцинатоксидазного окисления рассматривается как эволюционно сформировавшийся регуляторный и компенсаторный механизм, который реализуется в условиях дефицита кислорода в большинстве тканей (мозг, миокард, печень, почки, лимфоциты).

Репрограммирование работы дыхательной цепи в условиях гипоксии связано еще с одним важным функциональным аспектом – транскрипционной активностью гипоксического фактора HIF-1 α . В нормоксических условиях, благодаря регуляторному взаимодействию между МХ и цитозолем, реакции, осуществляющие деградацию HIF-1 α обеспечиваются субстратами, необходимыми для их активации, в том числе аспартатом и α -кетоглутаратом [Semenza G.L., 2000]. Последний окисляется в реакциях субстратного фосфорилирования и в НАД-зависимых реакциях, катализируемых митохондриальным комплексом I. Вовлечение в нормоксических условиях α -кетоглутарата в реакции деградации HIF-1 α сопряжено с образованием в цитозоле сукцината – ингибитора этих α -кетоглутарата, что обеспечивает поддержание фонового уровня HIF-1 α . При гипоксии происходит усиление образования сукцината в аминотрансферазных реакциях, активация сукцинатдегидрогеназы и сукцинатоксидазного окисления. Благодаря этому создаются условия для ингибирования стабилизации HIF-1 α , индукции транскрипционных процессов, транслокации HIF-1 α в ядро, его гетеродимеризации с HIF-1 α , конформационным изменениям, образованию транскрипционного активного комплекса, экспрессии HIF-1-зависимых генов-мишеней и синтеза защитных адаптивных белков в ответ на гипоксию [Лукьянова Л.Д., 2011].

Таким образом, важным механизмом срочной адаптации к гипоксии является двустороннее регуляторное взаимодействие субстратного участка дыхательной цепи и экспрессии белкового фактора HIF-1 α . Переключение при гипоксии метаболических потоков в дыхательной цепи на окисление сукцината обеспечивает аккумуляцию HIF-1 α , а сукцинатзависимая аккумуляция HIF-1 α , в свою очередь,

усиливает ингибирование комплекса I и создает условия для поддержания сукцинатоксидазного окисления и аккумуляции HIF-1 α .

Роль митохондрий в формировании механизмов долгосрочной адаптации

При длительном действии гипоксии происходит постепенная утрата значимости сукцинатоксидазного окисления при одновременном восстановлении электротранспортной функции НАД-зависимого пути окисления за счет появления новых изоформ фермента с новыми кинетическими свойствами, которые обеспечивают ему более высокую эффективность окисления субстратов в условиях высокой восстановленности пула пиридиннуклеотидов, характерной для гипоксии.

В условиях длительной адаптации к гипоксии кислородный гомеостаз тесно связан с транскрипционной экспрессией индуцируемых гипоксией генов позднего действия, необходимых для формирования адаптивных признаков. Ключевая роль в этом процессе принадлежит опять-таки HIF-1 [Semenza G.L., 2000, 2011, 2012]. В настоящее время идентифицировано около 100 генов-мишеней HIF-1 α , участвующих в долгосрочной адаптации к гипоксии. Продукты регулируемых HIF-1 генов действуют на разных функциональных уровнях. Все они способствуют улучшению:

- 1) доставки кислорода (эритропоэза, ангиогенеза);
- 2) метаболической адаптации (транспорта глюкозы, ионного транспорта, усилению гликолитической продукции АТФ);
- 3) клеточной пролиферации.

Конечным результатом такой активации является формирование адаптивных признаков, направленных как на снижение повреждающего влияния гипоксии, так и на оптимизацию доставки O₂ в клетку.

Таким образом, формирование долгосрочных механизмов адаптации к гипоксии является периодом экспрессии HIF-1 α -зависимых генов адаптации, и генерации благодаря этому нового спектра ферментов, в том числе и митохондриальных, способных в условиях низкой концентрации кислорода и высокой восстановленности клетки поддерживать ее стабильное энергоснабжение, жизнедеятельность и жизнеспособность. Именно за счет этого процесса происходит образование комплекса устойчивости адаптивных признаков, ответствен-

ных за длительно сохраняющееся увеличение резистентности организма к гипоксии [Лукьянова Л.Д., 2011].

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что формирование адаптации к гипоксии – это многокомпонентный фазный процесс, реализующийся на системном и клеточном уровнях через активацию различных сигнальных механизмов, находящихся в сложном взаимодействии и соподчинении. При этом ведущая роль в этом процессе принадлежит МХ. В условиях гипоксии митохондриальная дыхательная цепь не только принимает непосредственное участие в формировании как ранних, так и поздних адаптивных признаков, но и вовлекается в сложнейшую систему внутриклеточной и межклеточной сигнализации, благодаря которой обеспечивается формирование системного ответа организма на дефицит кислорода. При этом нужно отметить, по крайней мере, три важнейших регуляторных функции этой системы [Лукьянова Л.Д., 2011]:

- 1) компенсаторная, ответственная за формирование срочных реакций адаптации и резистентности организма при гипоксии, сопровождающаяся изменением кинетических свойств ферментов и путей окисления энергетических субстратов;
- 2) транскрипционная, обеспечивающая HIF-1-зависимую экспрессию генов, ответственных за формирование долгосрочных механизмов адаптации организма к низким значениям pO_2 ;
- 3) рецепторная, связанная с участием митохондрий в системе межклеточной сигнализации.

Таким образом, в целом реакция организма на дефицит кислорода является отражением сложного полифункционального ответа клетки, координированного нейрогуморальными механизмами, где в общей иерархии внутриклеточных процессов энергетический обмен выполняет триггерную роль.

ГЛАВА 2

ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА СЕРДЦА

Сокращение и расслабление миокарда обеспечивается координированной деятельностью трех основных функциональных систем кардиомиоцитов (КМЦ) – сократительного аппарата, системы ионного транспорта и системы энергообеспечения. Выполнение механической работы в регулярно повторяющихся циклах сокращения является главной функцией сердечной мышцы. Эта специфическая функция миокарда отражается как в особенностях строения его клеток, так и в характере внутриклеточных метаболических процессов. В КМЦ около 34% от его объема занимают МХ, 48% – миофибриллы, 1,5% – саркоплазматический ретикулум (СПР) и Т-система, 16,5% – другие компоненты клетки. Среди метаболических реакций одно из центральных мест занимают процессы снабжения сократительного аппарата энергией [Сакс В. А., Розенштраух Л. В., 1980].

Устойчивая и длительная работа сердца невозможна без постоянного притока кислорода. Сердце является одним из наиболее интенсивно работающих органов и поглощает около 10% всего кислорода, потребляемого организмом, хотя относительный вес сердца составляет всего около 0,5% веса тела. Таким образом, миокард – высокооксигенируемая ткань, 90% энергетических потребностей которой удовлетворяется за счет дыхания МХ. МХ расположены непосредственно под сарколеммой и между миофиламентами КМЦ таким образом, что существует постоянное расстояние для диффузии органических молекул между МХ и миофиламентами [Ventura–Clapier R., Garnier F., Veksler V., 2004]. В систолу реализуется более 90% окислительной способности миокарда, и, следовательно, в сердце продукция энергии практически не превышает ее утилизацию [Mootha V.K., Arai A.A., Balaban R.S., 1997]. Это точное равновесие между потреблением кислорода и работой сердца наблюдается как *in vivo*, так и *in vitro*, и проявляется постоянством общей клеточной концентрации

АТФ и креатинфосфата (КФ), поэтому должен существовать путь энергетической сигнализации для обеспечения строгого соответствия между потреблением кислорода и утилизацией энергии. В настоящее время природа и функция таких сигналов до сих пор обсуждается. Доступность кислорода, ограниченность субстратов, изменения содержания АТФ, АДФ, КФ, неорганического фосфата и кальция, уровень окислительно-восстановительного потенциала и состояние фосфотрансферазных систем – все это играет свою роль. Соотношение между данными факторами определяет энергетический гомеостаз метаболизма, который зависит от механической нагрузки и метаболического состояния сердца. Одним из кандидатов на роль фактора, объединяющего аэробный метаболизм и сердечную работу, является кальций. Кальций определяет функциональную активность как миозина и АТФазы СПР, так и основных дегидрогеназ и АТФ-синтетазы в МХ [Balaban R.S., 2002]. Тем не менее, предположение, что окислительное фосфорилирование и сокращение одновременно регулируются кальцием, не совсем верно, так как параллельное повышение нагрузки на сердце и потребления кислорода с увеличением длины мышечных волокон (закон Франка–Старлинга) наблюдается при постоянном внутриклеточном содержании кальция [Shimizu J., Todaka K., Burkhoff D., 2002].

Реакции, вовлеченные в продукцию и утилизацию АТФ, не происходят случайно, а включены в структурные и функциональные элементы, которые пространственно и во времени скоординированы. Так, показано, что в КМЦ гликолитические ферменты организованы в надмолекулярные комплексы и связаны с внутриклеточными структурами, такими как миофиламенты и СПР, где они участвуют в локальной продукции энергии, которая наиболее доступна для использования ионными насосами и другими мембранными структурами [Weiss J., Hiltbrand B., 1985]. Присутствие транспортных систем для высокоэнергетических фосфатов – это другой необходимый фактор кооперации энергетического метаболизма миокарда и поперечнополосатых мышц. Креатинкиназная и аденилаткиназная системы в мышечных клетках выступают в качестве энергетических челноков [Bessman S. P., Geiger P.J., 1981]. В ходе активного окислительного фосфорилирования, АТФ из матрикса посредством АТФ/АДФ-антипортера переносится в межмембранное пространство, где вступает в трансферазную реакцию, катализируемую митохондриальной креатинкиназой, с образованием креатинфосфата и АДФ. АДФ снова

используется в процессе окислительного фосфорилирования, и продолжает стимулировать дыхание. Это функциональная связь между АТФ-азными и креатинкиназной системами эффективно контролирует локальное отношение АТФ/АДФ, что термодинамически и кинетически способствует продукции энергии в МХ (низкое отношение АТФ/АДФ) и потреблению энергии в цитозоле (высокое отношение АТФ/АДФ). Эти участки связаны через реакции (близкие к равновесным), катализируемые креатинкиназами в цитозоле, в результате чего практически мгновенно фосфорная группа транспортируется к АТФ-азе, а метаболический сигнал – в МХ [Dzeja P.P., Zeleznikar R.J., Goldberg N.D., 1998]. Математическое моделирование показало существование локальных пулов адениловых нуклеотидов, взаимосвязанных через внутриклеточный транспорт энергии с креатинкиназами [Joubert F., Hoerter J.A., Mazet J.L., 2002].

Относительно недавно было показано, что клеточная архитектура участвует в энергетической регуляции. Само наличие энергетических связей между МХ и потребляющими энергию органеллами [Kaasik A. et al., 2001] объясняет, что локальное образование АДФ более эффективно стимулирует митохондриальное дыхание, чем образование АДФ во всем объеме клетки. В мышечных клетках МХ с соседними АДФ-продуцирующими системами в миофибриллах и СПР могут быть рассмотрены как функциональные единицы, представляющие основу структурной организации энергетического метаболизма в данных клетках [Saks V.A. et al., 2001].

Приведенные данные показывают, что поддержание энергетического гомеостаза, несмотря на изменение энергетических потребностей, важно и необходимо как условие эффективного сокращения. Это подтверждает тот факт, что клеточная архитектура и метаболическая сеть взаимодействуют с интегральными фосфотрансферазными системами, которые способствуют экономичному потреблению клеткой энергии в соответствии с её функцией, и повреждение в этой стройной регуляции может поставить под угрозу работу сердца. Сердечная мышца, как и многие другие ткани организма, использует для синтеза АТФ два основных вида субстратов: глюкозу и свободные ЖК. Кроме того, сердце может использовать также недоокисленные продукты, выделяемые клетками других органов - молочную кислоту, кетоновые тела, что повышает устойчивость работы сердца по сравнению с другими органами.

Нормально функционирующее сердце использует для энергетических целей различные субстраты, в выборе которых сердце весьма лабильно. Выбор субстрата зависит от его концентрации в крови, а также от интенсивности деятельности сердца. В обычном режиме деятельности сердца при достаточном снабжении кислородом КМЦ предпочтительно используют ЖК, обеспечивая выработку от 60 до 90% всего АТФ в миокарде (например, при β -окислении 1 молекулы пальмитиновой кислоты (ПК) образуется 129 молекул АТФ, а при аэробном окислении 1 молекулы глюкозы – 38 молекул АТФ), а при увеличенной функциональной нагрузке, когда требуется ускорить процесс синтеза АТФ, используется глюкоза [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. В последнее время подчеркивается роль в обмене миокарда триацилглицеридов. В покое доля триацилглицеридов составляет 15%. Во время работы доля жиров уменьшается в 2 раза. Даже при крайне высокой концентрации глюкозы окислительный обмен на 20% осуществляется за счет ЖК, среди которых основным источником энергии считаются олеиновая и пальмитиновая. При недостатке кислорода предпочтительнее более экономичное анаэробное расщепление глюкозы, так как в плане кислородных затрат ЖК не самый выгодный субстрат. Усиленное окисление ЖК и преобладание его над окислением глюкозы приводит в случае недостаточного поступления кислорода при ишемии к усугублению кислородного голодания [Lopashuk G.D., 2010].

Метаболизм глюкозы представляет собой важный источник энергии и осуществляется по двум основным метаболическим путям – гликолизу и окислительному декарбоксилированию. Гликолиз является первым этапом метаболизма глюкозы, который не требует присутствия кислорода для образования АТФ. За счет гликолиза образуется 5–10% общего количества АТФ, 20–30% энергии обеспечивают лактат. Миокард свободно утилизирует из крови молочную кислоту и пируват. Свободные ЖК при голодании и натошак становятся основным источником энергии. Такую лабильность в выборе энергетического субстрата следует рассматривать как проявление адаптации миокарда к различным условиям функционирования.

ГЛАВА 3

СТРУКТУРНЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕРДЦЕ ПРИ НЕДОСТАТОЧНОМ ПОСТУПЛЕНИИ КИСЛОРОДА

В тех случаях, когда сердце систематически испытывает повышенную потребность в кислороде, в миокарде наступают структурные изменения и масса сердца, в целом, увеличивается. Такие приспособительные процессы наблюдаются, например, у спортсменов, и масса сердца может достигать у них 500 г (при норме 200–300 г). Это происходит, главным образом, за счет увеличения размеров – гипертрофии отдельных КМЦ. Увеличение размеров сердца приводит, по закону Лапласа, к повышению напряжения стенок желудочков и, следовательно, к потреблению большего количества кислорода. Считается, что основным стимулятором роста КМЦ служит их кратковременное кислородное голодание. Гипертрофия КМЦ не может развиваться бесконечно, так как при ней ухудшается снабжение клеток кислородом. Так, при увеличении массы сердца до критического значения, равного примерно 500 г у взрослого мужчины, увеличивается как масса мышечной ткани, приходящейся на один капилляр, так и количество капилляров; однако, прекапиллярные сосуды при этом изменяются незначительно. В результате уровень поступления кислорода к клеткам сердца снижается. В патологических условиях масса сердца может становиться больше критической и наступает кислородное голодание многих участков миокарда, разрушение части КМЦ и нарушение нормальной структуры сердца – патологическая гипертрофия сердца с расширением (дилатацией) его полостей [Сакс В.А., Розенштраух Л.В., 1980].

При нарушении кровоснабжения подавление активности пируватдегидрогеназы (ПДГ) происходит за счет того, что уменьшается транспорт электронов в дыхательной цепи МХ вследствие нехватки кислорода, а снижение скорости оборота промежуточных продуктов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) приводит к увеличению отноше-

ния КоА / КоА-SH и также к ингибированию ПДГ. Параллельно увеличивается скорость окисления ЖК. В результате процессы окисления глюкозы значительно подавляются, катаболизм глюкозы сопровождается накоплением протонов, а отношение потребления кислорода к величине его поступления кислорода возрастает, работа сердца становится менее эргономичной [Капелько В.И., 2005; Lopashuk G.D. 2010].

Возникновение в сердечной мышце гипоксических зон и, как следствие, недостаточность продукции АТФ МХ, приводит к нарушениям энергозависимых процессов: функционирования сократительного аппарата и ионтранспортирующих систем. Снижение содержания АТФ при гипоксии способствует активации эндогенных фосфолипаз, распаду и потере мембранных фосфолипидов, увеличению текучести мембран и их селективной проницаемости [Лукьянова Л.Д., 2000, 2008].

Биологическая смерть клеток при тканевой гипоксии или аноксии обусловлена повреждением мембран МХ [Ferrari R., 1996; Huss J.M., Kelly D.R., 2005] и включает в себя следующую последовательность событий:

0–5 мин аноксии: снижение уровня АТФ в клетке в 2–4 раза, несмотря на активацию гликолиза;

5–15 мин: появление Ca^{2+} в цитоплазме клетки. Активация гидролитических ферментов, в том числе фосфолипазы A_2 МХ;

15–30 мин: гидролиз митохондриальных фосфолипидов и нарушение барьерных свойств митохондриальной мембраны. Реоксигенация ткани на этой стадии приводит к активному набуханию МХ. Процессы окисления и фосфорилирования в МХ разобщены, способность МХ накапливать ионы Ca^{2+} снижена;

30–60 мин: частичное восстановление функций МХ, временное повышение сопряженности окисления и фосфорилирования, способности накапливать кальций. Механизм компенсаторных процессов, приводящих к временному улучшению функций МХ, неизвестен, но, по-видимому, связан с функцией клетки в целом, так как в изолированных МХ восстановления функций не наблюдается;

60–90 мин: необратимое повреждение МХ, полная гибель клеток [Новицкий В.В., Гольдберг Е.Д., Уразова О.И., 2009].

Таким образом, поддержание энергетического гомеостаза в кардиомиоцитах требует адекватной поставки кислорода и субстратов для МХ, соотношения КФ/АТФ, транспорта энергии из МХ к участ-

кам ее утилизации, локальной регуляции соотношения АТФ/АДФ вблизи от АТФ-азы, а также эффективной обратной связи от участков утилизации энергии в клетке. Нарушение энергетики в последнее время стали предлагать как единый механизм для объяснения дисфункций миокарда при гипертрофических кардиомиопатиях [Ashrafian H., Redwood C., Blair E., Watkins H., 2003].

Сердце удовлетворяет свои энергетические потребности за счет окисления ЖК, глюкозы, лактата и других субстратов. Несмотря на взаимное подавление процессов окисления конкурирующего субстрата, наилучшее функционирование сердца наблюдается при окислении ЖК и глюкозы одновременно [Taegtmeyer H., 2002].

Обычно считается, что при гипертрофии главным энергетическим источником миокарда вместо β -окисления ЖК становится гликолиз, то есть миокард возвращается к окислению эмбриональных субстратов. Усиление гликолиза и увеличение количества ферментов гликолиза наблюдается при гипертрофии, но скорость окисления глюкозы снижается, и накопление лактата увеличивается. Поскольку процесс ремоделирования прогрессирует к стадии декомпенсации, метаболическая адаптация становится недостаточной со снижением мощности окисления глюкозы. У человека при сердечной недостаточности инактивированы транспортеры глюкозы GLUT-1 и GLUT-4 и мРНК мышечной гликогенсинтетазы [Razeghi P. et al., 2001]. Отсутствие GLUT-4 индуцирует гипертрофию [Abel E.D. et al., 1999], в то время как повышенная экспрессия GLUT-1 нормализует отношения КФ/АТФ и оказывает протективное действие в отношении развития сердечной недостаточности при перегрузке давлением [Liao R. et al., 2002]. Хотя точные механизмы полностью не понятны, данные факты указывают на важную роль энергетического метаболизма в патофизиологии сердечной недостаточности [Taegtmeyer H., 2002].

Хроническая сердечная недостаточность ассоциирована с морфологическими изменениями в МХ, такими как повышение, их количества, уменьшение размеров и нарушение структурной целостности. Повреждение митохондрий положительно коррелирует с показателями тяжести сердечной недостаточности, такими как содержание в плазме норадреналина, конечным диастолическим давлением в левом желудочке и ударным объемом [Sabbah H.N. et al., 1992]. Нарушение потребления кислорода и притупление митохондриальной регуляции акцепторами фосфата (АМФ, АДФ и креатин) способствуют снижению энергопродукции в МХ при сердечной недостаточности

[Sharov V.G. et al., 2000]. Снижение отношения КФ/АТФ прослеживалось при сердечной недостаточности у человека и в эксперименте, даже при спокойной нагрузке. При врожденной сердечной недостаточности значительно снижено содержание креатина, переносчика креатина, КФ и АТФ [Beer M. et al., 2002]. Точные клеточные механизмы, которые ведут к снижению уровня высокоэнергетических фосфатов и ставят под угрозу перенос энергии и сократительную способность миокарда, до конца не ясны. Важно, что они сопровождаются повышением концентрации АДФ и, как следствие, снижением фосфорилирующего потенциала.

В дополнение к снижению продукции энергии, при сердечной недостаточности также нарушаются ее транспорт и утилизация. Длительное генерализованное повреждение креатинкиназных систем (снижение общей ферментативной активности, повреждение структуры изоферментов и снижение потоков) является маркером сердечной недостаточности [Dzeja P.P., Zeleznikar R.J., Goldberg N.D., 2000]. Сюда относятся также снижение цитозольной свободной или связанной креатинкиназы и резкий спад активности и содержания митохондриальной креатинкиназы [Zhang J., 2002] и последнее предложено считать маркером перехода компенсаторной гипертрофии в сердечную недостаточность [Weiss R.G., Gerstenblith G., Bottomley P.F., 2005]. Это предполагает генерализованное снижение интеграции между цитозольными сигналами и МХ, а также ухудшение энергетической сигнализации, что, в конечном счете, приводит к неспособности поврежденного миокарда адаптировать продукцию энергии к её утилизации, равно, как и использовать свои сократительные резервы. Более того, снижение содержания сердечной митохондриальной креатинкиназы может привести к спонтанному открытию митохондриальных пор, что способствует апоптозу клеток при сердечной недостаточности [Dolder M. et al., 2003].

Транспорт энергии также может осуществляться аденилаткиназой и ферментами гликолиза, эти два пути могут быть признаны адаптивными механизмами поддержания поставленной под угрозу при сердечной недостаточности энергетики в сердце. Однако, общий компенсаторный потенциал этих систем уменьшается, и опосредованное аденилаткиназой повышение дыхания притупляется при сердечной недостаточности [Dzeja P.P., Zeleznikar R.J., Goldberg N.D., 2000].

В настоящее время ничего не известно о существовании непосредственных перекрестных энергетических связей между МХ и

внутриклеточными органеллами, потребляющими энергию при сердечной недостаточности [Kaasik A. et al., 2001]. Однако, эти органеллы связаны с помощью сети цитоскелета, для которой показано глубокое повреждение при сердечной недостаточности [Belmadani S. et al., 2002]. Сердечная недостаточность также сопровождается нарушением АТФ-зависимых процессов, таких как функционирование кардиопротекторных калиевых каналов, экспрессия генов и сигнальные системы [Dzeja P.P., Zeleznikar R.J., Goldberg N.D., 2000].

Биологическая смерть клеток сердца при гипоксическом повреждении обусловлена, как хорошо известно, нарушением структуры мембран митохондрий [Сапрунова В.Б., 2008; Сапрунова В.Б., Солодовникова И.М., Бакеева Л.Е., 2008]. Одной из активируемых при тканевой гипоксии внутриклеточных систем является система фосфолипаз [Новицкий В.В., Гольдберг Е.Д., Уразова О.И., 2009]. Внутриклеточные фосфолипазы обеспечивают процесс поддержания мембранного гомеостаза при различных нарушениях метаболизма КМЦ, осуществляя реакции деацилирования/ реацилирования [Grynberg A., 1999]. В ответ на изменение концентрации и соотношения ЖК происходит реорганизация липидного состава мембраны с целью создания оптимальных условий для сохранения функциональной активности внутриклеточных органелл и клетки в целом [Grynberg A., 1999]. Однако, мембранный гомеостаз кардиомиоцитов может нарушаться при некоторых патологических состояниях, сопровождающихся чрезмерной активацией фосфолипаз, вследствие накопления ЖК или их производных в тканях сердца, в частности, при ишемии миокарда и сахарном диабете [Grynberg A., 1999; Ventura–Clapier R., Garnier A., Veksler V., 2003; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Увеличение содержания ЖК и лизоформ фосфолипидов в результате гидролиза приводит к разобщению транспорта электронов и окислительного фосфорилирования, что связано с увеличением проницаемости мембран для белков. Активация кальций-зависимой фосфолипазы A_2 в МХ приводит к их повреждению, набуханию, снижению кальций-аккумулирующей способности МХ, а также уменьшению соотношения ионов калия и натрия в них с 3,7 до 2,5 [Губергриц Н.Б. и др., 2000]. Повышение активности процессов перекисного окисления мембранных липидов и фосфолипазы A_2 представляет собой основу для первичной и вторичной дестабилизации структурно-функциональной организации клеточных мембран со всеми вытекающими отсюда патоморфологическими и патохимическими изменениями в интра- и экстрацеллюляр-

ных пространствах. Увеличение активности фосфолипазы A_2 и содержания продуктов перекисного окисления липидов в мембранах обуславливают количественные и качественные изменения структуры липидной фазы мембран [Камзеев В.Д. и др., 2005].

Одной из основных причин нарушения поступления кислорода в клетки миокарда является атеросклеротическое повреждение коронарных сосудов. В атерогенезе принимает важное участие липопротеин ассоциированная фосфолипаза A_2 . Ее роль состоит в гидролизе окисленных ЛПНП, что приводит к образованию побочных провоспалительных, проатерогенных продуктов – лизофосфатидилхолина и окисленных незэстерифицированных ЖК. Лизофосфатидилхолин играет ключевую роль в атерогенезе. Он действует как хемоаттрактант для моноцитов, ухудшает эндотелиальную функцию, вызывает смерть клеток путем нарушения целостности плазматических мембран и индуцирует апоптоз в клетках гладкой мускулатуры и макрофагов [Данковцева Е.Н., Затейщиков Д.А., 2007]. Уровень липопротеинассоциированной фосфолипазы A_2 повышен в атеросклеротических бляшках, кроме того она интенсивно экспрессируется в макрофагах, находящихся в фиброзной капсуле в месте разрыва.

Также гидролиз фосфолипидов, инициированный фосфолипазами A_2 и C , обуславливает модификацию физико-химических свойств поверхностей частиц ЛПНП. Подобная липолитическая модификация изменяет, в частности, конформацию аполипопротеина В-100 на поверхности ЛПНП, что приводит к ассоциации этих частиц, а значит к увеличению их среднего размера. С увеличением размера частиц ЛПНП увеличивается их атерогенный потенциал – укрупненные частицы способны более эффективно накапливать внутриклеточный холестерин [Аксенов Д.В. и др., 2005; Молчанов С.Н. и др. 2005; Grynberg A., 1999].

Определение уровня активности липопротеинассоциированной фосфолипазы A_2 наряду с другими маркерами воспаления может использоваться для выявления лиц с высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, так как доказана повышенная вероятность возникновения острого коронарного синдрома, сердечной недостаточности, ишемии, инфаркта миокарда, инсульта при увеличении содержания липопротеинассоциированной фосфолипазы A_2 в крови. На основании многочисленных исследований доказано, что липопротеинассоциированная фосфолипаза A_2 может служить независимым предиктором риска развития ИБС [Губергриц Н.Б. и др., 2000].

Повышение содержания и активности фосфолипаз наблюдается также при заболеваниях суставов, сепсисе, перитоните, травмах, инфекциях, при лейкозах, при опухолях различной локализации, при патологии почек, при развитии дисбаланса между коагуляцией и фибринолизом, воспалении печени и тонкой кишки, нарушении проводимости нервной системы и при многих других заболеваниях [Вельтищев Ю.Е., 1981].

Таким образом, наряду с другими клеточными дефектами, изменение липидного состава клеточных и внутриклеточных мембран и генерализованный спад метаболических потоков через ферментные системы, включая механизмы энергетического транспорта, являются важным факторами развития сердечной недостаточности.

ГЛАВА 4

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ – ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ МЕТАБОЛИЗМА МИОКАРДА

Чрезмерное поглощение кардиомиоцитами ЖК часто связывают с неблагоприятными изменениями в сердечной функции. Предполагается, что именно увеличение образования и окисления ЖК в сердце при ишемии и диабете снижает эффективность работы сердца, и приводит к нарушению синтеза АТФ, увеличению производства АФК, следствием чего является окислительный стресс и апоптоз кардиомиоцитов. Огромное количество экспериментальных и клинических исследований подтверждают эту точку зрения на негативную роль увеличения концентрации свободных ЖК в плазме крови и ТГ в кардиомиоцитах. Устойчивым является мнение, что увеличение окисления ЖК в сердце является непременно ухудшающим фактором при патологиях сердца, вызванных нарушением коронарного кровообращения разной этиологии. Серьезным аргументом в пользу этого представления является улучшение качества жизни кардиобольных, получающих препараты, снижающие интенсивность липидного метаболизма.

Несмотря на мощный арсенал современной медицины, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в последнее десятилетие упорно занимает 1 место (по данным Роскомстата, официальный сайт www.gks.ru). А ведь с физиологической точки зрения организм является сложной саморегулирующейся системой, и здесь главной является приставка «само». Ничего случайного в изменении интенсивности любого процесса нет, а соответственно, логично предположить, что оно направлено на попытку сохранения метаболизма больного органа, компенсацию нарушенной функции. Вмешательство в естественный ход событий может быть оправдано только с позиции временного, до устранения патологической причины, а при невозможности такового требует жесточайшего контроля. Как будет показано

ниже, вмешательство в метаболизм ЖК может препятствовать включению естественных компенсаторно-приспособительных реакций и приводить к тяжелым последствиям.

Метаболизм жирных кислот в сердце: ключевые процессы

Высокие энергетические запросы сердца обусловлены поддержанием сократительной функции, базально-обменных процессов и ионного гомеостаза, что требует постоянной выработки АТФ на высокой скорости. Низкое содержание АТФ в сердце (5 мкмоль/г сырого веса) обусловлено высокой скоростью его гидролиза (~30 мкмоль/г сырого веса/мин, в состоянии покоя), поэтому в нормальных условиях полное исчерпание и восстановление пула АТФ происходит примерно каждые 10 с [Orie L.H., 1991]. В сердце взрослого организма основным источником АТФ является окислительное фосфорилирование в митохондриях. Для поддержания достаточного уровня АТФ, миокард использует любые доступные субстраты при их наличии (глюкозу, лактат, кетоновые тела, аминокислоты), но в нормальных условиях сердце получает 50–70% энергии АТФ в процессе β -окисления ЖК [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005].

Вклад β -окисления ЖК в общий окислительный энергетический метаболизм сердца весьма динамичен [Saddik M., Lopaschuk G.D., 1991], а интенсивность использования ЖК зависит от источника, концентрации и типа ЖК, а также наличия конкурирующих энергетических субстратов. Процесс β -окисления ЖК определяется рядом процессов, в том числе: 1) поглощения ЖК сердцем, 2) наличия других энергетических субстратов, 3) поступления кислорода к сердцу; 4) транспорта ЖК в митохондрии (МХ); 5) состояния и функциональной активности МХ [Dyck J.R. et al., 2000; Dyck J.R., Lopashuk G.D., 2002; Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005]. Регулирование β -окисления ЖК происходит на всех уровнях метаболического пути, в том числе на уровне липопропротеинлипазы (ЛПЛ), транспорта ЖК в кардиомиоциты (КМЦ) этерификации и поглощения КоА МХ и, собственно процесса β -окисления в МХ, который, в свою очередь, зависит от активности цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и электрон-транспортной цепи (ЭТЦ).

ЖК поступают в сердце в виде комплекса СЖК с альбумином или высвобождаются из триглицеридов (ТГ), содержащихся в хило-

микронах или липопротеинах очень низкой плотности (ЛПОНП) [Van der Vusse G.J., van Bilsen M., Glatz J.F., 2000]. Нормальные концентрации циркулирующих СЖК составляют диапазон от 0,2 до 0,6 мМ [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005]. Тем не менее, эти уровни могут значительно варьироваться до 2 и более мМ во время сильных стрессов, при ишемии миокарда и неконтролируемом диабете [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Хроническое или острое увеличение циркулирующих СЖК оказывает существенное влияние на темпы поглощения и β -окисления ЖК, так как артериальная концентрация ЖК является основным фактором, определяющим интенсивность этих процессов в сердце [Wisneski J.A. et al., 1987].

Лабильные ТГ являются основным источником эндогенных СЖК в миокарде [Brindley D.N. et al., 2010]. Исследования в сердцах крыс иллюстрируют относительную важность эндогенного распада ТГ для энергетического метаболизма миокарда. На долю ЖК из эндогенных ТГ приходится от 36% расхода энергии, при перфузии сердца с глюкозой в качестве единственного субстрата, до ~11%, при добавлении в перфузат пальмитата [Saddik M., Lopaschuk G.D., 1991]. Интрамиокардиальная деградация ТГ ускоряется при адренергической стимуляции, а синтез увеличивается с повышением концентрации в плазме СЖК [Lamb H.J. et al., 2008]. Плазменная концентрация СЖК является основным регулятором содержания ТГ в сердце: у здоровых людей показано 70%-ное увеличение содержания ТГ в сердце при кратковременном ограничении в пище, и 260% – при голодании, соответствуя повышению в плазме концентрации СЖК [Hammer S., 2008].

Транспорт СЖК в КМЦ происходит как путем пассивной диффузии, так и опосредованно, с помощью белков-транспортёров, включая FAT/CD36 и FATP 1/6 [Van der Vusse G.J., van Bilsen M., Glatz J.F., 2000; Goldberg I.G., Eckel R.H., Abumrad N.A., 2008; Schwenk R.W. et al., 2008; Su X., Abumrad N.A., 2009]. Первоначально считалось, что большая часть СЖК за счет своих липофильных свойств поступает в КМЦ путем пассивной диффузии и флип-флоп транспортом, как показано на изолированных клетках [Luiken J.J. et al., 1999; Schwenk R.W. et al., 2008]. Однако, исследования, проведенные на изолированном сердце, поддерживают концепцию рецептор-опосредованного транспорта ЖК с помощью белков-переносчиков: FABPpm связывает и концентрирует ЖК как для пассивной диффузии, так и для транспорта, опосредованного FAT/CD36 или FATP 1/6 [Schwenk R.W. et al., 2008]. Наиболее важная роль в перемещении ЖК

через плазматическую мембрану КМЦ принадлежит FAT/CD36 [Hajri T., Abumrad N.A., 2002; Luiken J.J. et al., 2004]. Исследования с ингибированием [Luiken J.J. et al., 2004] или удалением [Kuang M. et al., 2004] FAT/CD36 показали, что 50–60% ЖК поступает в сердце через FAT/CD36-опосредованный транспорт. В отличие от FATP или FABPpm, FAT/CD36 может перемещаться между внутриклеточными органеллами и плазматической мембраной [Luiken J.J. et al., 2004]. Инсулин и сокращение сердца стимулируют перемещение FAT/CD36 к мембране, тем самым облегчая поглощение ЖК [Luiken J.J. et al., 2004]. При этом увеличение ЖК стимулирует деградацию FAT/CD36, что может быть механизмом ингибирования поглощения ЖК по типу обратной связи.

В цитоплазме ацил-КоА синтетаза преобразует ЖК в длинноцепочечные эфиры ацил – КоА, которые затем могут быть использованы для синтеза целого ряда внутриклеточных липидных интермедиатов, или ЖК могут быть переданы с карнитином в МХ. Поглощение ЖК в МХ осуществляется посредством карнитин пальмитоилтрансферазы1 (КПТ1), катализирующей превращение длинноцепочечных ацил КоА в ацилкарнитин, который затем перемещается в МХ. Ключевым механизмом регуляции деятельности КПТ1 является аллостерическое торможение этого фермента малонил КоА. Концентрация малонил КоА в сердце зависит от баланса между его синтезом из ацетил-КоА, при помощи ацетил-КоА-карбоксилазы (АКК) [Saddik M. et al., 1993], и его деградацией, при помощи малонил-КоА-декарбоксилазы (МКД) [Sakamoto J. et al., 2000; Van der Vusse G.J., van Bilsen M., Glatz J.F., 2000; Dyck J.R., Lopashuk G.D., 2002], а активность АКК находится в обратной зависимости от β -окисления ЖК в сердце [Saddik M. et al., 1993].

Первоначально считалось, что в клетках млекопитающих МКД находится только в МХ [Courchesne-Smith C. et al., 1992], но МКД также обнаружен в цитоплазме и пероксисомах [Kerner K.L, 2002, Sambandam N. et al., 2004]. В ряде исследований показано, что увеличение β -окисления ЖК связано с повышенной активностью МКД, в том числе при диабете, ишемии и голодании [Kudo N., Barr R., Lopaschuk G.D., 1995; Goodwin G.W., Taegtmeyer H., 1999]. Нужно отметить, что в изолированном работающем сердце крысы и сердце человека окисление ненасыщенных ЖК происходит с такой же скоростью, что и окисление насыщенных ЖК [Saddik M., Lopaschuk G.D., 1991].

Метаболизм длинноцепочечных ацил КоА в МХ происходит путем β -окисления, с последовательным участием ацил-КоА-дегидрогеназы, еноил-КоА-гидратазы, L-3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы, и 3-кетоацил-КоА-тиолазы (3-КАТ) [Schulz H., 2007]. Каждый цикл β -окисления ЖК сопровождается уменьшением ацила на 2 атома углерода, образованием ацетил КоА, флавинадениндинуклеотида (ФАДН₂) и никотинамид адениндинуклеотида (НАДН). Каждый из 4 ферментов β -окисления ЖК ингибируется механизмом по типу обратной связи продуктами ферментативной реакции, в том числе ФАДН₂ и НАДН. Особое значение имеет ингибирование 3-КАТ по накоплению ацетил-КоА в периоды низкого метаболического спроса, когда снижение активности ЭТЦ и ЦТК приводит к накоплению ацетил-КоА, ФАДН₂ и НАДН.

В хорошо перфузируемом сердце ~ 50–70% от ацетил-КоА образуется при β -окислении ЖК и 30–50% приходится на окисление пирувата [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005], преобразование которого происходит по трем путям: в лактат, декарбоксилированием – в ацетил КоА, и карбоксилированием – в оксалоацетат или малат. Декарбоксилирование пирувата является ключевым необратимым шагом в окислении углеводов и катализируется пируватегидрогеназой (ПДГ) [Patel M.S., Korotchkina L.G., 2006], мультиферментным комплексом, расположенным в МХ. ПДГ инактивируется фосфорилированием субъединицы E1 комплекса и активируется дефосфорилированием специфических фосфатаз ПДГ [Patel M.S., Korotchkina L.G., 2006]. Повышение циркулирующих СЖК и внутриклеточное накопление длинноцепочечных ЖК, как, например, при диабете, приводит к усилению ингибирования ПДГ и уменьшению окисления пирувата [Huang, 2002]. При снижении концентрации в плазме СЖК или прямом торможении β -окисления ЖК, окисление пирувата повышается [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005]. Высокий уровень β -окисления ЖК может также ингибировать изоформы 1 и 2 фосфофруктокиназы (и, следовательно, гликолиз) через увеличение концентрации цитозольного цитрата. Это «глюкозо-жирнокислотный цикл» впервые был описан Филипом Рэндлом и коллегами в 1960-х годах и получил название «цикл Рэндла» [Lopashuk G.D. et al., 2010]. Максимальная скорость окисления пирувата определяется степенью фосфорилирования ПДГ, однако фактический поток определяется концентрацией субстратов и их продуктами в МХ [Patel M.S., Korotchkina L.G., 2006].

Важную роль в сердце выполняет АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФ-ПК) как в регулировании β -окисления ЖК [Sakamoto J. et al., 2000], так и поглощения глюкозы и гликолиза [Russell R.R. et al., 2004; Li J. et al., 2005; Jaswal J.S. et al., 2006, 2007]. АМФ-ПК действует как «датчик топлива», увеличивая β -окисление ЖК в периоды повышенного спроса на энергию, или уменьшая его в периоды низкого спроса, вследствие усиления или уменьшения ингибирующего действия на активность АКК и, соответственно, уровня малонил КоА. АМФ-ПК реагирует на метаболический стресс, распад клеточного АТФ, повышение АМФ, или увеличение соотношения креатин/фосфокреатин (Кр/фКр) [Dyck J.R. et al., 2006; Hardie D.G., 2004, 2007]. Показано, что активность АМФ-ПК в сердце также может быть независима от уровня адениннуклеотидов [Altarejos J.Y. et al., 2005]. Например, инсулин подавляет активность АМФ-ПК в сердце при неизменных соотношениях АМФ/АТФ и Кр/фКр [Folmes C.D., Clanachan A.S., Lopaschuk G.D., 2005].

ЖК и/или липидные метаболиты, такие, как эйкозаноиды и лейкотриены могут быть лигандами для PPARs [Huss J.M., Kelly D.P., 2004]. PPARs являются членами суперсемейства ядерных лиганд-активированных рецепторов. Одним из основных транскрипционных регуляторов метаболизма ЖК в сердечной мышце является PPAR α . Избыточная экспрессия PPAR α в сердце приводит к заметному увеличению поглощения и β -окисления ЖК из-за повышенной экспрессии ферментов, участвующих в этих процессах [Finck B.N. et al., 2002]: в поглощении ЖК (FAT/CD36, FATP1), этерификации цитозольных ЖК (FABP, FACS и др.), метаболизме малонил КоА (МКД), поглощении ЖК в МХ (КПТ1), окислении глюкозы (киназа пируват-дегидрогеназы), β -окислении ЖК (ацил-КоА-дегидрогеназа, 3-КАТ), митохондриальном разобщении (митохондриальные тиоэстеразы, разобщающие белки семейства UCP) [Huss J.M., Kelly D.P., 2004; Yang Q., Li Y., 2007]. PPAR β/δ присутствует в высоких концентрациях в сердце и участвует в транскрипционном контроле многих из тех же ферментов, что и PPAR α . Гиперэкспрессия PPAR β/δ приводит к повышенной экспрессии генов, вовлеченных в β -окисление ЖК, которая не сопровождается накоплением липидов или сердечной дисфункцией у мышей [Burkart E.M. et al., 2007]. При этом наблюдается повышенный уровень усвоения и окисления глюкозы в КМЦ, в противоположность гиперэкспрессии PPAR α [Burkart E.M. et al., 2007]. До недавнего времени считали, что PPAR γ , третья изоформа PPAR,

не оказывает прямого воздействия на сердце из-за очень низкого уровня экспрессии в сердце. PPAR γ сильно выражен в жировой ткани, и его активация может резко понизить уровень циркулирующих ЖК [Yang Q., Li Y., 2007; Madrazo J.A., Kelly D.P., 2008]. Однако гиперэкспрессия PPAR γ в сердце вызывает эффект, подобно гиперэкспрессии PPAR β [Son N.H. et al., 2007].

В нормальном сердце около 75% жирных кислот окисляются немедленно [Lopaschuk G.D. et al., 2010], соответственно, снижение β -окисления может способствовать развитию липид-вызванных сердечно-сосудистых патологий. Хорошо известно, что ЖК могут преобразовываться в сложные липиды, такие как ТГ, диацилглицерол, и церамиды, и накопление этих интермедиатов участвует в развитии резистентности к инсулину, сердечной дисфункции и сердечной недостаточности [Petersen K.F., Shulman G.I., 2006; Summers S.A., 2006; Muoio D.M., Newgard C.B., 2008]. Теоретически, увеличение β -окисления ЖК может уменьшить риск липотоксичности. Тем не менее, роль снижения β -окисления ЖК в содействии липид-вызванных патологий сердца является спорным вопросом [Асташкин Е.И., Глезер М.Г., 2009; Lopaschuk G.D., Folmes C.D., Stanley W.C., 2007; Yang J. et al., 2007].

Влияние ишемии на метаболизм жирных кислот

Ишемия миокарда возникает при нарушении коронарного кровотока, а, следовательно, и снабжение кислородом сердечной мышцы является недостаточным для удовлетворения потребности сердца. Последствия ишемии миокарда зависят от характера и тяжести ишемического эпизода и последующего восстановления кровотока (реперфузии). В нормальном сердце, энергетический обмен и функция сердца находятся в идеальном соответствии, однако ишемия вызывает нарушение баланса между окислением ЖК и глюкозы. При ишемии увеличивается уровень катехоламинов, что приводит к увеличению циркулирующих СЖК в плазме крови из-за усиления липолиза в жировой ткани, подавления секреции инсулина поджелудочной железой и периферической чувствительности к инсулину [Robergs R.A., Ghiasvand F., Parker D., 2004]. Увеличение концентрации циркулирующих СЖК во время и после ишемии, таким образом, увеличивает доставку ЖК в миокард, что, в свою очередь, может изменять ути-

лизацию ЖК. Основным источником окислительного метаболизма в этих условиях является β -окисление ЖК [Lloyd S.G. et al., 2004; Folmes C.D. et al., 2009] без относительно существенного увеличения окисления углеводов [Panchal A.R. et al., 2001]. Хотя гликолиз может предоставить ограниченное количество АТФ при ишемии, однако приводит к накоплению лактата и H^+ [Robergs R.A., Ghiasvand F., Parker D., 2004], которые могут еще больше усугубить ионные нарушения, вызванные ишемией. Соответственно, гликолитический АТФ при ишемии расходуется в большей мере на восстановление ионного гомеостаза.

Известно, что при тотальной ишемии происходит накопление восстановительных эквивалентов в форме НАДН и ФАДН₂. Ферменты β -окисления ЖК, ацил-КоА-дегидрогеназа и 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа чувствительны к окислительно-восстановительному состоянию матрикса (соотношению НАД⁺/НАДН и ФАД/ФАДН₂). Ингибирование β -окисления ЖК вследствие накопления восстановительных эквивалентов может привести к накоплению производных ЖК в клетке: ацилкарнитина – в МХ и цитозоле, ацил КоА – преимущественно в МХ [Idell–Wenger J.A., Grottyohann L.W., Neely J.R., 1978]. Накопление эфиров ацилкарнитина и ацил КоА способствует разрушению митохондриальных крист, что в конечном итоге может нарушить функции МХ [Jennings R.B., Reimer K.A., 1991].

Изменения в субклеточном контроле β -окисления ЖК также способствуют изменениям их метаболизма в миокарде при ишемии [Wang Y.X. et al., 2003]. Ишемия миокарда сопровождается быстрой активацией АМФ-ПК и последующим фосфорилированием и торможением АКК [Kudo N. et al., 1995, 1996]. Эти изменения в сочетании с относительным увеличением активности МКД приводят к уменьшению содержания в миокарде малонил КоА при ишемии [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005]. Уменьшение содержания малонил КоА снимает торможение КПТ1, что позволяет увеличить β -окисление ЖК вследствие увеличения входа ЖК в МХ. Эти эффекты способствуют вкладу β -окисления ЖК в производство АТФ при ишемии миокарда [Folmes C.D. et al., 2009]. Таким образом, во время реперфузии, темпы β -окисления ЖК быстро восстанавливаются до преишемического уровня, в то время как сократительная функция остается сниженной [McVeigh J.J., Lopaschuk G.D., 1990]. Восстановление β -окисления ЖК за счет окисления глюкозы способствует разобщению метаболизма глюкозы, так как гликолиз преобладает над

окислением пирувата, что усугубляет внутриклеточный ацидоз и уменьшает восстановление сердечной деятельности, несмотря на восстановление коронарного кровотока [Liu Q. et al., 2002].

Количество молекул АТФ при потреблении одного атома кислорода ЭТЦ в МХ при окислительном фосфорилировании варьируется в зависимости от энергетического субстрата, используемого для генерации восстановительных эквивалентов (НАДН и ФАДН₂) в МХ [Hinkle P.C., 2005]. Для сравнения, полное окисление 1 молекулы пальмитата генерирует 105 молекул АТФ и потребляет 46 атомов кислорода, в то время как полное окисление 1 молекулы глюкозы генерирует 31 молекулу АТФ и потребляет 12 атомов кислорода. Поэтому, использование ЖК в качестве субстрата энергетически более выгодно, в плане выработки АТФ, но это требует большего потребления кислорода, чем использование глюкозы, соответственно, пальмитат является менее «кислород-эффективным» энергетическим субстратом для синтеза АТФ.

Заметное уменьшение выработки АТФ при ишемии приводит к ингибированию Na⁺/K⁺-АТФазы, которая имеет решающее значение в регулировании мембранного потенциала покоя [Bers D.M., Barry W.H., Despa S., 2003]. Нарушение функции Na⁺/K⁺-АТФазы, таким образом, приводит к внутриклеточной Na⁺-перегрузке. Нормализация внеклеточного рН в постишемический период создает большой градиент рН, содействуя Na⁺/H⁺ – обмену через плазматическую мембрану, и это еще больше усугубляет внутриклеточную перегрузку Na⁺. Это, в свою очередь способствует Na⁺/Ca²⁺ обмену [Baartscheer A. et al., 2003], и развитию событий, связанных с избытком внутриклеточного Ca²⁺, таких как контрактура, митохондриальная дисфункция, активация Ca²⁺-зависимых протеаз, и, как кульминации, гибели КМЦ. На сегодняшний день хорошо известно, что нарушение деятельности саркоплазматической Ca²⁺-АТФазы, перегрузка КМЦ ионами Ca²⁺ и снижение чувствительности сократительных белков к Ca²⁺ является главным определяющим фактором патофизиологии ишемической и постишемической сократительной дисфункции.

Сердечная недостаточность и метаболизм жирных кислот

Сердечная недостаточность оказывает серьезное воздействие на метаболизм ЖК через системный и сердечно-специфические меха-

низмы [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005]. Показано, что скорость поглощения и окисления СЖК в КМЦ была снижена у пациентов с дилатационной кардиомиопатией; при этом артериальная концентрация СЖК не отличалась от контрольной группы [Neglia D. et al., 2007]. Поглощение СЖК отрицательно коррелирует с расширением камеры ЛЖ, а низкая скорость поглощения и β -окисления СЖК сохранялась во время и после острой стрессово стимуляции [Neglia D. et al., 2007]. У пациентов с неишемической идиопатической дилатационной кардиомиопатией (с гипертрофией ЛЖ и ФВ ЛЖ – 27%) поглощение и β -окисление ЖК были снижены на ~ 40%, а усвоение глюкозы увеличено в два раза в сравнении с контрольной группой [Davila–Roman V.G. et al., 2002]. При этом не наблюдалось различий в показателях артериального давления, уровня СЖК и инсулина в плазме, коронарном кровотоке и потреблении кислорода миокардом, в сравнении со здоровыми добровольцами [Davila–Roman V.G. et al., 2002]. В целом, клинические данные показывают, что при отсутствии значительного увеличения концентрации СЖК в плазме, наблюдается значительное снижение скорости β -окисления ЖК при развитой сердечной недостаточности как в абсолютном выражении, так и в соответствии с потреблением кислорода миокардом.

Результаты, полученные на моделях сердечной недостаточности у животных поддерживают концепцию снижения β -окисления ЖК при сердечной недостаточности. Исследования с использованием модели сердечной недостаточности у собак с тахикардией показали прогрессивное снижение поглощения и окисления ЖК [Nikolaidis L.A. et al., 2004; Qanud K. et al., 2008]. С другой стороны, на собаках с сердечной недостаточностью умеренной тяжести, вызванной микроэмболизацией коронарных сосудов, показано нормальное окисление СЖК и глюкозы [Chandler M.P. et al., 2004], несмотря на серьезные нарушения в функциональной активности МХ [Rosca M.G. et al., 2008]. У крыс с хронической коронароокклюзией показано, что через два месяца после инфаркта, при явной дисфункции ЛЖ, наблюдалось нормальное потребление кислорода и окисление пальмитата миокардом [Remondino A. et al., 2000]. Однако через 6 месяцев после инфаркта наблюдалось снижение окисления пальмитата в сердце крыс [Heather L.C. et al., 2006]. Аналогичное снижение окисления СЖК наблюдали у животных с гипертрофией ЛЖ и сократительной дисфункцией, вызванными пережатием аорты, перегрузкой ЛЖ объемом, или хронический спонтанной гипертензией [Lopashuk G.D. et

al., 2010]. Таким образом, при сердечной недостаточности у модельных животных наблюдается снижение темпов окисления ЖК.

В большинстве литературных источников поддерживается концепция, что основные дефекты в МХ сердца при сердечной недостаточности связаны с аппаратом дыхания и окислительного фосфорилирования, ЭТЦ [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005; Neubauer S., 2007]. Известно, что МХ сердца при развитой сердечной недостаточности характеризуются более низкой способностью к дыханию и окислительному фосфорилированию [Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005; Neubauer S., 2007]. При исследовании функции МХ сердца собак, с индуцированной ишемической сердечной недостаточностью, обнаружено уменьшение АДФ-стимулированного дыхания на 40–50% [Rosca M.G. et al., 2008]. Это уменьшение было примерно одинаковым при использовании в качестве субстратов пальмитил КоА, пальмитилкарнитина, глутамата, пирувата, или сукцината с ротеноном [Rosca M.G. et al., 2008]. Хотя это свидетельствует о дефектах окислительного фосфорилирования на уровне ЭТЦ, показано, что активность отдельных комплексов ЭТЦ и ферментов ЦТК при этом сохранялась нормальной [Chandler M.P. et al., 2004; Rosca M.G. et al., 2008]. Содержание суперкомплекса, включающего комплексы I, III и IV [Dudkina N.V. et al., 2005; Zhang M., Mileykovskaya E., Dowhan W., 2002, 2005], при этом снижалось. Предполагено, что митохондриальный дефект при сердечной недостаточности заключен в надмолекулярной сборке, а не в отдельных компонентах ЭТЦ [Garcia–Palmer F.J., 2008; Rosca M.G. et al., 2008]. Пока неизвестно, как и какие агенты влияют на сборку и функции ЭТЦ при сердечной недостаточности.

Метаболизм жирных кислот при ожирении и сахарном диабете

При ожирении и сахарном диабете увеличивается интрамиокардиальный пул ТГ, вследствие повышения циркулирующих СЖК и ТГ, увеличения поглощения ЖК и интрамиокардиального синтеза ТГ [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Несмотря на накопление ТГ в диабетическом сердце, эти запасы могут быть быстро мобилизованы, независимо от уровня СЖК [O'Donnell J.M. et al., 2006]. При перфузии диабетического сердца крысы без экзогенных ЖК, окисление глюкозы обеспечивает менее 20% от общей потребности сердца в АТФ

[Saddik M., Lopaschuk G.D., 1994]. При стрептозотоциновом диабете у крыс сердце почти полностью зависит от β -окисления ЖК как источника ацетил-КоА в ЦТК при перфузии с глюкозой и пальмитатом [Sakamoto J. et al., 2000].

Сердечная гиперэкспрессия PPAR α , приводящая к изменениям, подобным при сахарном диабете 2 типа, резко повышала β -окисление ЖК с последующим снижением потребления и окисления глюкозы [Finck B.N. et al., 2002]. При моделировании диабета 1 типа, также показано значительное усиление β -окисления ЖК [Kewalramani G. et al., 2007]. Кроме того, показано, что у больных с диабетом 1 типа и диабетом 2 типа с ожирением наблюдается повышенное поглощение и окисление ЖК [Herrero P. et al., 2006; Peterson L.R. et al., 2004, 2008]. Эти данные свидетельствуют о преобладании β -окисления ЖК при ожирении и инсулинрезистентности, но не о нарушении β -окисления ЖК.

Существуют обширные данные, что резистентность к инсулину, наблюдаемая при сахарном диабете, метаболическом синдроме, ожирении, или малоподвижном образе жизни, как правило, сопровождается увеличением циркулирующих СЖК, ТГ, глюкозы и инсулина. С другой стороны, появляется все больше доказательств того, что при диабете 2 типа и гиперинсулинемии чувствительность к инсулину в сердце человека мало меняется или не меняется совсем, сравнительно с контролем, независимо от уровня СЖК [Lopashuk G.D., 2010]. Аналогичные результаты были получены на генетически модифицированных мышцах с диабетом 2 типа [Hafstad A.D. et al., 2006, 2007], что поддерживает тем самым общую концепцию, что при диабете 2 типа реакция на инсулин в сердце относительно сохранена [McNulty P.H., 2006]. Это явно отличает сердечную мышцу от скелетных мышц и жировой ткани, в которых наблюдается инсулинрезистентность при повышенной концентрации глюкозы и СЖК в плазме крови.

При ожирении и сахарном диабете, увеличение концентрации циркулирующих СЖК играет важную роль в регуляции метаболизма ЖК из-за увеличения поступления субстратов. ЖК могут напрямую изменять экспрессию ферментов метаболизма ЖК, так как ЖК и их производные могут служить в качестве эндогенных лигандов ядерных рецепторов PPAR семейства, PPAR α и его коактиватора PGC-1 [Huss J.M., Kelly D.P., 2004; Finck B.N., Kelly D.P., 2007; Yang Q., Li Y., 2007; Madrazo J.A., Kelly D.P., 2008], что особенно важно в сердце [Buchanan J. et al., 2005; Murray A.J. et al., 2005]. Активация

ЖК этих ядерных рецепторов повышает окислительную способность сердца [Carley A.N., Severson D.L., 2005; Carley A.N. et al., 2007].

Ранние метаболические изменения при ожирении и диабете происходят независимо от изменений в PPAR α /PGC-1 [An D., Rodrigues B., 2006; Abel E.D., Litwin S.E., Sweeney G., 2008], но при хроническом переедании и ожирении повышается активность PPAR α /PGC-1, в результате чего происходит увеличение мРНК белков, которые контролируют β -окисление ЖК [Finck B.N. et al., 2002; Buchanan J. et al., 2005; Abel E.D., Litwin S.E., Sweeney G., 2008]. У стрептозотоцин-диабетических крыс активация PPAR α была связана с длительным увеличением липидов в плазме крови [An D., Rodrigues B., 2006]. Ряд исследований показали большую выраженность генов-мишеней PPAR α , PGC-1 при диабете 1 и 2 типов [Finck B.N. et al., 2002; Duncan J.G. et al., 2007]. Показано, что гиперэкспрессия PPAR α в сердце у мышей ускоряет β -окисление ЖК и ухудшает способность использовать глюкозу, как при диабете [Finck B.N. et al., 2002; Duncan J.G. et al., 2007].

Изменениями в PPAR α и PGC-1 можно частично объяснить подавление метаболизма глюкозы при ожирении и сахарном диабете. Гиперэкспрессия PPAR α значительно снижает мРНК и экспрессию белка-транспортера глюкозы (GLUT4) [Finck B.N. et al., 2002]. Кроме того, у PPAR α -нулевых мышей не наблюдалось снижения уровня GLUT4 и поглощения глюкозы, подобных снижению у мышей дикого типа при увеличении по разным причинам концентрации циркулирующих СЖК [Panagia M. et al., 2005]. У мышей с гиперэкспрессией PPAR α снижалась скорость окисления глюкозы в сердце [Hopkins T.A. et al., 2003], в то время как мыши, лишённые PPAR α , увеличивали темпы окисления глюкозы [Sambandam N. et al., 2006].

Изменения в регуляции малонил КоА КПТ1 и транспорта ЖК в МХ играют важную роль в ускорении β -окисления ЖК при ожирении и сахарном диабете. Сердце при стрептозотоциновом диабете у крыс почти полностью зависит от β -окисления ЖК как источника ацетил-КоА в ЦТК при перфузии с глюкозой и пальмитатом [Sakamoto J. et al., 2000]. При этом наблюдалось увеличение активности МКД в диабетической группе [Sakamoto J. et al., 2000]. Показано увеличение уровня мРНК МКД в сердце при снижении уровня малонил КоА в сердце при стрептозотоциновом диабете животных [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Так как МКД является ферментом, ответственным за деградацию малонил КоА в сердце, можно предположить, что снижение

уровня малонил КоА и торможения КПТ1 вносят вклад в ускорение β -окисления ЖК у больных сахарным диабетом.

Предварительные данные показывают, что МКД также играют роль в увеличении β -окисления ЖК при ожирении, поскольку у мышей с диет-индуцированным ожирением наблюдается увеличение β -окисления ЖК, связанное с повышенной экспрессией МКД [Folmes C.D., Lopaschuk G.D., 2007; Lopaschuk G.D., Folmes C.D., Stanley W.C., 2007]. Показана высокая активность МКД в сердце при сахарном диабете, истощении или высокожировой диете, обусловленная увеличением СЖК, как следствие, повышенной экспрессией МКД [Lopaschuk G.D. et al., 2010].

При ожирении и сахарном диабете происходит увеличение потребления кислорода и снижение эффективности работы сердца, наблюдаемое у животных [Buchanan J. et al., 2005; Boudina S. et al., 2007] и людей [Peterson L.R., 2004, 2008] из-за затрат на окисление ЖК. Хотя подобное снижение эффективности работы сердца наблюдается в ряде исследований, с другой стороны, некоторые исследования демонстрируют нормальную эффективность работы сердца у тучных животных с гипергликемией, несмотря на увеличение β -окисления ЖК [Sidell R.J. et al., 2002; Wang P. et al., 2005]. Предполагается, что ускоренное окисление ЖК и/или кетоновых тел и, reciprocally, снижение окисления глюкозы, играют роль в процессах, которые приводят к снижению функции сердца у больных диабетом 1 типа. Интересно, что преодоление вызванного ЖК торможения окисления глюкозы с помощью прямой стимуляции ПДГ восстанавливает сократительную активность сердца у крыс со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом [Nicholl T.A., Lopaschuk G.D., McNeill J.H., 1991].

Возможным механизмом увеличения потребления кислорода и снижения эффективности работы сердца при ожирении и сахарном диабете может быть увеличение потребности в АТФ для неконтрактильных целей. В ряде моделей ожирения и диабета обнаружена митохондриальная дисфункция, как компенсаторный механизм на определенном этапе развития патологии [Shen X. et al., 2006; Ussher J.R., Lopaschuk G.D., 2006, 2008, 2009]. Ожирение и сахарный диабет сопровождаются увеличением потребления кислорода и β -окисления ЖК в сердце, и при этом наблюдается разобщение в МХ, о чем свидетельствует снижение P/O и увеличение протонной утечки [Boudina S. et al., 2007; Duncan J.G. et al., 2007]. Возможный механизм

разобщения в МХ представляет собой увеличение активности и/или количество разобщающих белков, в частности UCP3, в сердцах животных с ожирением и диабетом [Buchanan J. et al., 2005; Murray A.J. et al., 2005; Boudina S. et al., 2007]. В дополнение к этому, было показано участие адениннуклеотидтранслоказы (АНТ) в индуцированном ЖК разобщении в МХ: АНТ1, основная изоформа АНТ во взрослом сердце, участвует в транспорте анионов ЖК из МХ в цитозоль [Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005]. В дополнение к митохондриальному разобщению, кислород также может быть использован для других не-контрактивных процессов, таких как этерификация ЖК и генерация АФК. Митохондриальная дисфункция при ожирении и сахарном диабете частично может быть объяснена увеличением производства АФК и последующим окислительным стрессом [Li S.Y. et al., 2006; Shen X. et al., 2006; Boudina S. et al., 2007]. Снижение эффективности работы сердца может происходить вследствие усиления циркулирования ЖК между матриксом МХ и цитозолем и затратами АТФ на цитозольные и митохондриальные реакции в КМЦ при стрептозотоциновом диабете и высокожировой диете [Lopashuk G.D. et al., 2010].

Липотоксичность сердца: спорные вопросы

Накопление в миокарде липидных метаболитов (ТГ и церамидов) при ожирении и диабете связано с сердечной патологией, которая проявляется увеличением апоптоза в КМЦ, фиброзе миокарда, увеличении камер ЛЖ, сократительной дисфункции и нарушении диастолического наполнения. Это общее явление наблюдали на нескольких генетических моделях мышей и крыс, и получило общепризнанное название «липотоксичность сердца» [Асташкин Е.И., Глезер М.Г., 2009]. Спорным является вопрос о причине накопления липидных метаболитов в сердце при ожирении и сахарном диабете 2 типа: является ли это следствием чрезмерного поступления ЖК или же это следствие нарушения окисления имеющихся ЖК [Lopaschuk G.D., Folmes C.D., Stanley W.C., 2007; Essop M.F. et al., 2008]. Предполагается, что именно снижение темпов β -окисления ЖК играет важную роль в накоплении липидных метаболитов в сердце.

Было высказано предположение, что снижение экспрессии PPAR α и ферментов β -окисления ЖК является причиной интрамиокардиального накопления липидов и способствует сердечной дисфункции, что иногда наблюдается при ожирении и диабете

[Chess D.J. et al., 2008; Chess D.J., Stanley W.C., 2008]. Высокожировая диета приводила к значительному увеличению массы тела и накоплению ТГ и церамидов в миокарде крыс с установленной инфаркт-индуцированной сердечной недостаточностью, но при этом не наблюдалось отрицательного влияния на объем камеры, массу и давление в ЛЖ [Morgan E.E. et al., 2006]. Эти данные не позволяют утверждать, что липидные накопления в сердце наносят большой ущерб при сердечной недостаточности.

При исследовании сердца при ожирении / инсулинрезистентности у человека и грызунов в большинстве случаев не наблюдали снижения β -окисления ЖК [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Важно также отметить, что у мышей с диет-индуцированным ожирением не наблюдали какой-либо сердечной дисфункции, несмотря на серьезное накопление длинноцепочечных ацил КоА [Ussher J.R. et al., 2009]. Ингибирование КПТ1 на фоне высокожировой диеты у крыс вызывало более значительное повышение уровня ТГ, чем при просто высокожировой диете, однако и это не приводило к развитию гипертрофии сердца или его дисфункции [Okere I.C. et al., 2007].

Отдельного внимания требует рассмотрение роли жировой ткани, которую ранее считали пассивным резервуаром энергии. На сегодняшний день доказано, что жировая ткань является эндокринным органом, способным отслеживать изменения в энергетическом метаболизме в целом организме и отдельных органах [Waki H., Tontonoz P., 2007]. Жировая ткань синтезирует и выделяет ряд гормонов, таких как лептин, адипонектин, сывороточный ретинол-связывающий белок-4, резистин и визфатин, а также провоспалительные цитокины, включая интерлейкин (IL)-6 и фактор некроза опухоли- α [Waki H., Tontonoz P., 2007]. Циркулирующие концентрации лептина, сывороточного ретинол-связывающего белка-4, резистина, и визфатина положительно коррелируют с уровнем адипонектина и отрицательно – с жировой массой и накоплением жира в скелетных мышцах и/или печени и резистентностью к инсулину [Steppan C.M., Lazar M.A., 2002; Fukuhara A. et al., 2005; Sethi J.K., Vidal-Puig A., 2005; Graham T.E. et al., 2006; Perseghin G. et al., 2007; Guo Z. et al., 2007].

Лептин может модулировать метаболизм жирных кислот в сердце. Обработка лептином изолированного работающего сердца крысы повышает β -окисление экзогенных и эндогенных ЖК и приводит к уменьшению интрамиокардиального пула ТГ [Atkinson L.L., Fischer M.A., Lopaschuk G.D., 2002]. Подобно лептину, адипонектин сти-

мулирует β -окисление ЖК и поглощение ЖК, увеличивая уровень FATP1 [Li L. et al., 2007; Palanivel R. et al., 2007]. Интересно, что ограничение калорийности пищи приводит к значительному повышению уровня адипонектина [Shinmura K. et al., 2007]. Адипонектин защищает сердце при ишемии / реперфузии *in vitro* [Gonon A.T. et al., 2008] и *in vivo* [Shibata R. et al., 2005; Tao L. et al., 2007], а также при развитии гипертрофии сердца [Shibata R. et al., 2004].

Эпидемиологические исследования показывают, что тучные люди имеют снижение продолжительности жизни, более высокий риск развития сердечной недостаточности, и большую смертность от сердечно-сосудистых заболеваний. Однако, у пациентов с диагнозом сердечная недостаточность и ожирением парадоксально снижена смертность в сравнении с худыми пациентами [Davos C.H. et al., 2003; Lavie C.J. et al., 2003; Lavie C.J., Milani R.V., 2003]. Также показано, что кахексия является положительным прогностическим фактором смертности при сердечной недостаточности и потеря веса в значительной степени связана с неблагоприятным исходом [Davos C.H. et al., 2003; Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005]. Кроме того, не хватает убедительных доказательств, что у тучных людей с хронически повышенным уровнем ТГ и СЖК в плазме наблюдается интрамиокардиальное накопление липидов или сердечно-сосудистая патология является липид-индуцированной [Lopaschuk G.D., Folmes C.D., Stanley W.C., 2007]. Проявление липотоксичности наблюдается в основном в экспериментах на модельных животных [Асташкин Е.И., Глезер М.Г., 2009]. Таким образом, требуются дальнейшие исследования, чтобы определить истинное значение накопления липидов и развития липотоксичности в сердце животных и человека.

ГЛАВА 5

ВЛИЯНИЕ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ. МЕХАНИЗМЫ РАЗОБЩАЮЩГО ДЕЙСТВИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

По современным представлениям, работу сердца определяет сбалансированность метаболизма ЖК [Grynberg A., 1999; Lopashchuk G.D., и др. 2010]. Основной пул ЖК преимущественно вовлечен в окислительные энергетические процессы и поддержание мембранного гомеостаза КМЦ, способствуя, таким образом, нормальной электрофизиологической активности мембран и сохранению сократительной активности миокарда. Однако при чрезмерном поступлении СЖК в клетку, гипоксии, различных патологиях сердца процессы нормального окисления ЖК нарушаются и ЖК и/или их продукты становятся инициаторами разобщения окисления и фосфорилирования в митохондриях КМЦ, блокирования окисления глюкозы, набухания и нарушения структуры митохондрий и др. [Lopashuk G.D. et al., 2010]. Такое действие ЖК может быть обусловлено разными процессами:

- собственно метаболизмом ЖК в матриксе МХ (образование недоокисленных продуктов; липоперекисей и др.);
- ионофорным действием ЖК [Sharpe M.A., Cooper C.E., Wrigglesworth J.M., 1994];
- протонофорным действием ЖК [Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005];
- ЖК-индуцированным открытием неспецифической кальций-зависимой поры в мембране митохондрий [Wieckowski M.R., Wojtczak L., 1998].

Это транслоказа адениловых нуклеотидов (АНТ) во внутренней мембране, циклофиллин Д (CyP-D) в матриксе и потенциал зависимый анионный канал (VDAC) внешней мембраны МХ [Halestrap A.P. et al., 2004, 2009; Javadov S. et al., 2009; Lemasters J.J. et al., 2009;

Baines C.P., 2009; Morin D. et al., 2009]. Считается также, что большое число таких белков, как периферический бензодиазепиновый рецептор, креатинкиназа, гексокиназа и белки семейства Bcl-2, играют регуляторную роль в формировании МРТР. Большинство современных исследований подвергают сомнению их роль в сердце [Асташкин Е.И., Глезер М.Г., 2009]. Спорным является вопрос о причине накопления липидных метаболитов в сердце при ожирении и сахарном диабете 2 типа: является ли это следствием чрезмерного поступления ЖК или же это следствие нарушения окисления имеющихся ЖК [Lopaschuk G.D., Folmes C.D., Stanley W.C., 2007; Essop M.F. et al., 2008]. Предполагается, что именно снижение темпов β -окисления ЖК играет важную роль в накоплении липидных метаболитов в сердце.

Было высказано предположение, что снижение экспрессии PPAR α и ферментов β -окисления ЖК является причиной интрамиокардиального накопления липидов и способствует сердечной дисфункции, что иногда наблюдается при ожирении и диабете [Chess D.J. et al., 2008; Chess D.J., Stanley W.C., 2008]. Высокожировая диета приводила к значительному увеличению массы тела и накоплению ТГ и церамидов в миокарде крыс с установленной инфаркт-индуцированной сердечной недостаточностью, но при этом не наблюдалось отрицательного влияния на объем камеры, массу и давление в ЛЖ [Morgan E.E. et al., 2006]. Эти данные не позволяют утверждать, что липидные накопления в сердце наносят большой ущерб при сердечной недостаточности.

При исследовании сердца при ожирении / инсулинрезистентности у человека и грызунов в большинстве случаев не наблюдали снижения β -окисления ЖК [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Важно также отметить, что у мышей с диет-индуцированным ожирением не наблюдали какой-либо сердечной дисфункции, несмотря на серьезное накопление длинноцепочечных ацил КоА [Ussher J.R. et al., 2009]. Ингибирование КПТ1 на фоне высокожировой диеты у крыс вызывало более значительное повышение уровня ТГ, чем при просто высокожировой диете, однако и это не приводило к развитию гипертрофии сердца или его дисфункции [Okere I.C. et al., 2007].

Отдельного внимания требует рассмотрение роли жировой ткани, которую ранее считали пассивным резервуаром энергии. На сегодняшний день доказано, что жировая ткань является эндокринным органом, способным отслеживать изменения в энергетическом мета-

болизме в целом организме и отдельных органах [Waki H., Tontonoz P., 2007]. Жировая ткань синтезирует и выделяет ряд гормонов, таких как лептин, адипонектин, сывороточный ретинол-связывающий белок-4, резистин и визфатин, а также провоспалительные цитокины, включая интерлейкин (IL)-6 и фактор некроза опухоли- α [Waki H., Tontonoz P., 2007]. Циркулирующие концентрации лептина, сывороточного ретинол-связывающего белка-4, резистина, и визфатина положительно коррелируют с уровнем адипонектина и отрицательно – с жировой массой и накоплением жира в скелетных мышцах и/или печени и резистентностью к инсулину [Steppan C.M., Lazar M.A., 2002; Fukuhara A. et al., 2005; Sethi J.K., Vidal-Puig A., 2005; Graham T.E. et al., 2006; Perseghin G. et al., 2007; Guo Z. et al., 2007].

Лептин может модулировать метаболизм жирных кислот в сердце. Обработка лептином изолированного работающего сердца крысы повышает β -окисление экзогенных и эндогенных ЖК и приводит к уменьшению интрамиокардиального пула ТГ [Atkinson L.L., Fischer M.A., Lopaschuk G.D., 2002]. Подобно лептину, адипонектин стимулирует β -окисление ЖК и поглощение ЖК, увеличивая уровень FATP1 [Li L. et al., 2007; Palanivel R. et al., 2007]. Интересно, что ограничение калорийности пищи приводит к значительному повышению уровня адипонектина [Shinmura K. et al., 2007]. Адипонектин защищает сердце при ишемии / реперфузии *in vitro* [Gonon A.T. et al., 2008] и *in vivo* [Shibata R. et al., 2005; Tao L. et al., 2007], а также при развитии гипертрофии сердца [Shibata R. et al., 2004].

Эпидемиологические исследования показывают, что тучные люди имеют снижение продолжительности жизни, более высокий риск развития сердечной недостаточности, и большую смертность от сердечно-сосудистых заболеваний. Однако у пациентов с диагнозом сердечная недостаточность и ожирением парадоксально снижена смертность в сравнении с худыми пациентами [Davos C.H. et al., 2003; Lavie C.J. et al., 2003; Lavie C.J., Milani R.V., 2003]. Также показано, что кахексия является положительным прогностическим фактором смертности при сердечной недостаточности и потеря веса в значительной степени связана с неблагоприятным исходом [Davos C.H. et al., 2003; Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005]. Кроме того, не хватает убедительных доказательств, что у тучных людей с хронически повышенным уровнем ТГ и СЖК в плазме наблюдается интрамиокардиальное накопление липидов или сердечно-сосудистая

патология является липид-индуцированной [Lopaschuk G.D., Folmes C.D., Stanley W.C., 2007]. Проявление липотоксичности наблюдается в основном в экспериментах на модельных животных [Асташкин Е.И., Глезер М.Г., 2009]. Таким образом, требуются дальнейшие исследования, чтобы определить истинное значение накопления липидов и развития липотоксичности в сердце животных и человека.

МОДУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЖИРНЫХ КИСЛОТ КАК ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОДХОД

Модуляция метаболизма энергетических субстратов миокарда, в частности, смещение от использования ЖК к использованию глюкозы в качестве окислительного топлива для повышения сохранения механической функции и эффективности сердца, лежит в основе современной терапии при различных формах ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности. В последнее время уделяется значительное внимание фармакологическим средствам, которые препятствуют β -окислению ЖК в пользу использования глюкозы в качестве энергетического субстрата [Dyck J.R. et al., 2004; Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D., 2005; Dyck J.R., Lopaschuk G.D., 2006; Ussher J.R., Lopaschuk G.D., 2006; Jaswal J.S., Lopaschuk G.D., 2007; Yang J. et al., 2007; Tuunanen H. et al., 2008]. Изменение баланса между окислением ЖК и глюкозы может быть вызвано с помощью фармакологических средств, которые действуют на разных этапах метаболизма ЖК и глюкозы. Что касается метаболизма ЖК, эффекты могут быть получены путем изменения концентрации циркулирующих субстратов, усвоения жирных ацилов КоА в МХ, а также путем изменения процесса β -окисления ЖК, как прямо, так и косвенно, через стимулирование окисления пирувата.

Антилипидемические средства

Статины (симвастатин, флувастатин, розувастатин и др.) являются общепризнанными и неоспоримыми средствами для лечения и профилактики атеросклероза и связанных с ним острых и хронических заболеваний, а также хорошо переносимыми среди всех гиполипидемических средств [Атрощенко Е.С., 2007; Александров А.А. и др., 2012; Аронов, Д.М., 2012]. Статины являются ингибиторами фермента гидроксиметил-глутарил коэнзим А-редуктазы (ГМГ-КоА).

Этот фермент регулирует скорость образования мевалоновой кислоты из ацетилкоэнзима А (первый этап эндогенного синтеза холестерина). Гиполипидемическое действие связано со снижением уровня холестерина за счет ЛПНП [Подобед В.М., Кузьменко А.Т., 2011]. В зависимости от дозы статины снижают уровень этого липопротеина до 55%. Важным их свойством является то, что они не только эффективно снижают уровни общего холестерина и ЛПНП, но и повышают содержание липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), обладающих выраженным анти-атеросклеротическим действием. Кроме этого, некоторые из статинов могут достаточно успешно снижать концентрацию ТГ [Подобед В.М., Кузьменко А.Т., 2011]. Положительные эффекты статинов связаны не только с подавлением биосинтеза холестерина в гепатоцитах, что приводит к снижению ЛПНП, ТГ, но и наличием многочисленных плеiotропных эффектов. Статины вызывают увеличение биодоступности NO, стабилизацию атеросклеротической бляшки, антитромботическое, мягкое антигипертензивное, антиаритмическое, антиоксидантное и иммуномодулирующее действия, а также улучшение эластичности артерий и эндотелиальной функции [Гиляревский С.Р., 2005; Аронов Д.М., 2008]. Клиническую эффективность статинов в кардиологии трудно переоценить [Атрощенко Е.С., 2007; Подобед В.М., Кузьменко А.Т., 2011]. Однако, хорошая переносимость и доказанная в ходе II/III фаз клинических испытаний безопасность статинов внезапно была подвержена сомнению после серии смертельных исходов вследствие рабдомиолиза и почечной недостаточности при применении церивастатина, послужившего причиной его снятия с рынка в 2001 г. [Аронов Д.М., 2004]. Рабдомиолиз, некроз скелетных мышц обусловлен лизисом клеток поперечно-полосатых мышц, сопровождающийся уменьшением объема циркулирующей крови, снижением почечного кровотока, острой почечной недостаточностью, шоком. Наибольшее число статиновых рабдомиолизом относилось к церивастатину, наименьшее – на флувастатин и ловастатин. Видно также, что возраст играет предрасполагающую роль в развитии рабдомиолиза: у лиц в возрасте до 50 лет включительно это осложнение наблюдалось в среднем у 7,7% больных, подавляющее большинство осложнений наблюдалось у лиц среднего (51%) и пожилого (17,4%) возраста. Рабдомиолиз является крайне опасным осложнением: более половины больных (53,6%) нуждалось в госпитализации независимо от вида статина, вызвавшего рабдомиолиз (при аторвастатине – 45,1%); 7,8% больных с рабдомиолизом по-

гибли. Несколько большая частота смертей (10,9%) при развившемся рабдомиолизе наблюдалась при лечении ловастатином [Аронов Д.М., 2004]. Помимо рабдомиолиза могут наблюдаться и другие побочные реакции: миозит (особенно у больных с высокой температурой тела), повышение активности печеночных ферментов, кожная сыпь, бессонница, периферическая нейропатия, аллергические реакции (волчаночноподобные симптомы, возникающие при применении препарата более 6 месяцев) [Александров А.А. и др., 2012]. Не так давно появились данные об опасности резкого прекращения приема статинов у больных с явлениями острого атеротромбоза (мозговой инсульт, острый коронарный синдром) [Endres M., 2006]. У больных острым коронарным синдромом внезапное прекращение приема статинов достоверно повышает риск смерти и развития тромботических осложнений, в то время как у больных стабильной стенокардией прекращение приема этих лекарственных средств не сопровождается повышением риска нежелательных событий. У больных острым ишемическим инсультом внезапное прекращение приема статинов связано с более высоким риском развития ранних неврологических осложнений и неблагоприятным прогнозом [Endres M., 2006].

Для борьбы с дислипидемиями самостоятельно, или в комбинации со статинами, используются фибраты, производные фиброевой кислоты [Ищук В.А., 2011]. Родоначальником данной группы препаратов является клофибрат, широко применявшийся в 60–70-е годы прошлого века для профилактики и лечения атеросклероза. В последующем, после того как стали очевидны его недостатки, он практически был вытеснен другими фибратами. В клинической практике используется клофибрат, гемфиброзил, безафибрат, ципрофибрат и фенофибрат. Механизм действия фибратов связывают с изменением активности липопротеинлипазы и, таким образом, липолиза. Кроме того, под действием фибратов происходит активация транспортных белков переноса ЖК в печень, и ацил Ко-А синтетазы, что увеличивает окисление липидов [Ищук В.А., 2011]. Считают, что фибраты увеличивают сродство ЛПНП к соответствующим рецепторам, в результате чего процесс захвата и утилизации ЛПНП ускоряется. Фибраты могут увеличивать экспрессию и активность экстракардиальных FACS [Schoonjans K. et al., 1993], что может способствовать увеличению связывания ЖК цитозольными белками в печени и почках и сердце [Paulussen R.J., Jansen G.P., Veerkamp J.H., 1986]. Кроме того, они повышают экспрессию ферментов β -окисления ЖК в печени

[Cook W.S. et al., 2000]. В совокупности, эти эффекты усиливают экстракардиальное β -окисление ЖК и снижают концентрацию циркулирующих СЖК, тем самым снижая поступление и β -окисление ЖК в сердце. Экспериментальные исследования показали кардиопротекторные эффекты фибратов, в частности, сокращение размера зоны инфаркта [Wayman N.S. et al., 2002] и улучшение постишемического восстановления сердечной функции [Prasad M.R. et al., 1988]. Все эти эффекты связывают со стимуляцией PPAR α и, соответственно, с активацией многочисленных генов, ответственных за обмен липидов. Однако, фибраты в сочетании со статинами увеличивают опасность проявления побочных эффектов, таких как рабдомиолиз.

Тиазолидиндионы

Тиазолидиндионы (росиглитазон, пиоглитазон и др.), группа противодиабетических препаратов, являются синтетическими агонистами PPAR- γ , а соответственно, могут влиять на ингибирование или повышения экспрессии значительного количества генов, включая участвующие в контроле углеводного и жирового обмена, микроциркуляции, а такие гены свертывающей системы и воспалительного ответа организма. В результате увеличивается активность транспортеров глюкозы, глюкокиназы, липопротеинлипазы и других ферментов, активируется липогенез в жировых клетках, уменьшается поступление свободных жирных кислот в другие ткани, снижается возможность развития инсулинрезистентности в мышцах и печени [Александров А.А. и др., 2011, 2012]. Экспериментальные исследования показывают, что снижение тиазолидиндионами концентрации циркулирующих ТГ и СЖК в плазме [Yue T.L. et al., 2005] содействует поглощению глюкозы и лактата из крови и окислению глюкозы [Sidell R.J. et al., 2002; Yue T.L. et al., 2005]. Эти изменения в поступлении энергетических субстратов и обмена веществ в миокарде улучшают постишемическое восстановление функции сердца [Yue T.L. et al., 2005]. Несмотря на способность тиазолидиндионов побуждать эти потенциально полезные изменения в метаболизме миокарда, их использование в клинической практике может быть не совсем желательно: тиазолидиндионы создают эффект увеличения задержки жидкости и периферических отеков из-за их сосудорасширяющего эффекта у пациентов с диабетической сердечной недостаточностью [Lindenfeld J., Masoudi F.A., 2007]. Использование тиазолидиндионов увеличивает риск инфаркта миокарда и смерти от сер-

дечно-сосудистых причин у больных сахарным диабетом 2 типа [Lindenfeld J., Masoudi F.A., 2007; Nissen S.E., Wolski K., 2007]. Механизмы, лежащие в основе повышения риска развития инфаркта миокарда при использовании тиазолидиндионов, остаются нерешенными, однако, это может быть связано с неблагоприятными изменениями в профиле циркулирующих липопротеинов, в частности, увеличения концентрации ЛПНП, а также повышения внутрисосудистого объема и потребления кислорода [Nissen S.E., Wolski K., 2007]. Тиазолидиндионы препятствуют отложению липидов в нежировых тканях и, таким образом, могут способствовать ожирению за счет увеличения поглощения липидов в жировой ткани. Кроме того, агонисты PPAR γ могут уменьшить экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), экспрессию рецепторов VEGF 1 и 2, а также ингибировать VEGF-индуцированный ангиогенез [Xin X. et al., 1999]. Насколько выражены эти эффекты в коронарном кровообращении, неизвестно, тем не менее, вполне возможно уменьшение образования коллатеральных сосудов в условиях ИБС, что может способствовать увеличению риска развития инфаркта миокарда. Обнаружены различия в клинических исходах при применении различных тиазолидиндионов, поэтому появляется потребность поиска новых менее пероксисом-активных препаратов и осознается необходимость контроля над показателями обмена свободных радикалов при применении данной группы лекарственных средств [Александров А.А. и др., 2011].

Ингибиторы поглощения и окисления жирных кислот в митохондриях

Фармакологические препараты, которые ингибируют КПТ1, а, соответственно, и поглощение ЖК митохондриями, такие как этоксомир, пергекселин и ранолазин могут оказывать антиишемический эффект с помощью модуляции метаболизма ЖК. Экспериментальные исследования показывают, что антиишемический эффект этих соединений связан с увеличением окисления глюкозы в миокарде за счет подавления β -окисления ЖК [Lopaschuk G.D. et al., 2010].

В экспериментальных моделях ишемии и реперфузии, этоксомир улучшал восстановление функции желудочка после ишемии [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Этот кардиопротекторный эффект также проявляется в постишемическом диабетическом сердце. Защитный эффект этоксомира в постишемического период сопровождается усилением темпов окисления глюкозы и увеличением производства и

использования АТФ для сокращения сердца путем стимуляции через цикл Рэндла ПДГ в сердце [Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Однако, недавнее исследование по влиянию этоксомира на восстановление окисления глюкозы (ERGO) было досрочно остановлено [Holubarsch C.J. et al., 2007]. Не было обнаружено какого-либо значительного улучшения в группе, получающей этоксомир по сравнению с плацебо, а у части пациентов с сердечной недостаточностью ФК NYHA II–III установлены повышенные уровни печеночных трансаминаз [Holubarsch C.J. et al., 2007].

Пергекселин часто назначали в качестве антиишемического средства при лечении стенокардии [Ashrafian H., Horowitz J.D., Frenneaux M.P., 2007], однако, его использование сократилось в 1980-х годах из-за обнаруженных неблагоприятных эффектов, включая такие как печеночная токсичность (стеатоз и некроз) и периферическая нейропатия [Lee L., Horowitz J., Frenneaux M., 2004; Lee L. et al., 2005]. Возможно, что это связано с накоплением фосфолипидов, вторичным процессом по отношению к торможению КПТ1 [Ashrafian H., Horowitz J.D., Frenneaux M.P., 2007].

Триметазидин является частичным ингибитором β -окисления ЖК, который конкурентно ингибирует 3-КАТ, терминальный фермент β -окисления ЖК. Триметазидин клинически используется при антиангинальной терапии в более чем в 90 странах мира [Parang P., Singh B., Arora R., 2005]. Триметазидин, препятствуя β -окислению ЖК, увеличивает окисление глюкозы [Lopaschuk G.D. et al., 2003] и ослабляет гликолиз, что снижает производство H^+ и ацидоз. Ингибирование гликолиза в сочетании с увеличением окисления глюкозы и частичным торможением β -окисления ЖК может ограничивать стимулированное ишемией нарушение ионного гомеостаза в миокарде. В частности, показано, что улучшение метаболизма глюкозы снижает внутриклеточный ацидоз, а также Na^+ и Ca^{2+} перегрузку при ишемии и последующей реперфузии и улучшает постишемическое восстановление функции сердца. Триметазидин снижает ишемическое повреждение КМЦ за счет поддержания Ca^{2+} -гомеостаза: уменьшает Ca^{2+} ток, предотвращает увеличение $[Ca^{2+}]_i$ и сохраняет активность Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума, что защищает клетку от Ca^{2+} перегрузки [Lopashuk G.D. et al., 2010].

Эффекты триметазидина в экспериментальных исследованиях могут быть экстраполированы на клинические условия, где препарат эффективен при лечении стенокардии, инфаркта миокарда и сердеч-

ной недостаточности. Частичное торможение β -окисления ЖК через обратимое, конкурентное ингибирование 3-КАТ, ослабляет по крайней мере частично, некоторые последствия различных форм ишемической болезни сердца. Однако, длительная терапия триметазидином может приводить к хореиформным нарушениям и лекарственному паркинсонизму [Martí Massó J.F., 2004; Sommet A. et al., 2005; Masmoudi R. et al., 2005; Sivet J. et al., 2008]. Следует отметить, что триметазидин не мешает накоплению активированных ЖК и их недоокисленных продуктов в МХ.

Справедливые опасения высказаны в работе [McCarty M.F., 2004], посвященной терапии ранолазином и триметазидином при стенокардии напряжения. Автор строит простую логическую цепочку: эти препараты подавляют окисление ЖК не только в сердечной мышце, таким образом, уровень СЖК в плазме будет расти постепенно, но неуклонно. Увеличение СЖК приведет к увеличению тканевого уровня липидов, и метаболитов, таких как ацил-КоА, ТГ, диацилглицерол, церамиды. В печени, при снижении окисления жирных кислот, можно ожидать увеличение печеночной секреции триглицеридов и аполипопротеина В, что способствует развитию атеросклероза и эндотелиальной дисфункции. Эти эффекты могут быть усилены при более длительных сроках лечения. Таким образом, указанные препараты первоначально могут помочь предотвратить боль и (возможно) аритмии путем содействия обеспечению адекватного уровня АТФ в миокарде при стенокардии напряжения, но эта выгода может быть только временной, и за счет обострения синдрома инсулинрезистентности, со всеми рисками патогенных изменений. В конечном счете, резюмирует автор, анитангинальная польза будет потеряна, но пациент получит ожирение и инсулинорезистентность.

В арсенале современной кардиологии существует целый ряд препаратов, направленных на липидный метаболизм, так как повышение уровня циркулирующих ЖК, интрамиокардиальное накопление ТГ и преобладание β -окисления ЖК над окислением глюкозы являются одной из важнейших причин нарушения функции кардиомиоцитов при ишемическом и диабетическом повреждении миокарда. По этой причине метаболическая терапия включает в себя регуляцию синтеза холестерина и соотношения ЛПНП/ЛПВП, снижение интенсивности метаболизма ЖК путем торможения их поглощения и β -окисления в митохондриях сердца. Однако, как следует из вышеизложенного, не-

смотря на несомненно высокое цитопротекторное действие подобного рода препаратов, имеются данные, ставящие под сомнение эффективность такого подхода. Так, сердце при диабете почти полностью зависит от β -окисления ЖК [Saddik M., Lopaschuk G.D., 1994; Sakamoto J. et al., 2000], а окисление глюкозы обеспечивает <20% от общей потребности сердца в АТФ [Ussher J.R. et al., 2009; Ussher J.R., Lopaschuk G.D., 2009], что увеличивает роль ЖК как субстрата окисления. В клинических и экспериментальных исследованиях при разных формах сердечной недостаточности в большинстве случаев показано значительное снижение β -окисления ЖК, а следствием именно этого является накопление липидных метаболитов и дисфункция сердца. Ингибирование β -окисления ЖК может способствовать развитию инсулинрезистентности, атеросклероза и эндотелиальной дисфункции [McCarty M.F., 2004]. Длительное вмешательство в липидный метаболизм приводит к тяжелым последствиям: гепатотоксичности и периферической нейропатии (этоксомир, пергекселин, статины) [Lee L., Horowitz J., Frenneaux M., 2004; Holubarsch C.J. et al., 2007], хореиформным нарушениям и лекарственному паркинсонизму (триметазидин) [Martí Massó J.F., 2004; Sommet A. et al., 2005; Masmoudi R. et al., 2005; Sivet J. et al., 2008]; рабдомиолизу и острой почечной недостаточности (статины) [Аронов Д.М., 2004]. Торможение окисления ЖК ограничивает способность сердца реагировать на длительный стресс [Mouquet F. et al., 2010], возможно, за счет нарушения компенсаторных процессов с участием ЖК. Так, секреция адипонектина жировой тканью эпикарда [Iacobellis G., Barbaro G., 2008] защищает сердце при ишемии / реперфузии и гипертрофии сердца [Shibata R. et al., 2004, 2005; Tao L. et al., 2007; Gonon A.T. et al., 2008]. ТГ сохраняют ЖК до возможности их эффективного окисления [Brindley D.N. et al., 2010], а ЖК-стимулированное увеличение синтеза липинов повышает чувствительность клеток к инсулину [Phan J., Reue K., 2005]. ЖК-стимулированное повышение активности липопротеинлипазы, может увеличивать поглощение и β -окисление ЖК в МХ диабетического сердца [Pulinilkunnil T. et al., 2003; Qi D. et al., 2004; Pulinilkunnil T., Rodrigues B., 2008]. Таким образом, все вышеперечисленное является свидетельством важной роли ЖК как активаторов альтернативных метаболических процессов, направленных на сохранение и поддержание сердца в патологических условиях.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ СЕРДЦА

С целью исследовать и показать неспецифичность ответной реакции миокарда на патологическое воздействие, нами были выбраны две разные известные модели повреждения сердца. «Механическая» ишемия была вызвана окклюзией левой нисходящей коронарной артерии. Моделированием стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета создавали «метаболическую ишемию» – такое определение диабетического поражения миокарда получило из-за того, что нарушения метаболизма при диабете очень похожи на последствия ишемического поражения миокарда [Александров А.А., 2003]. Несмотря на изначально разные причины, в конечном счете, в обеих ситуациях патологические последствия связывают с накоплением и нарушением метаболизма жирных кислот [Александров А.А., 2003; Brindley D.N. et al., 2010; Lopaschuk G.D. et al., 2010].

Исследования проведены на половозрелых крысах-самцах (250–300 г) линии Вистар. Были сформированы следующие экспериментальные группы:

- I группа – контроль – интактные животные;
- II группа – животные после моделирования инфаркта;
- III группа – животные с индуцированным сахарным диабетом;
- IV группа – постинфарктные животные со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом;

V группа – животные, у которых после индукции сахарного диабета вызывали инфаркт миокарда (таблица 1).

Для исключения из исследования крыс с низкой устойчивостью к гипоксии [Лукьянова Л.Д., 2000], животных брали в исследование не ранее, чем через 2 недели после моделирования патологии.

Таблица 1

Экспериментальные группы животных

Обозначение подгрупп в группах	Срок от моделирования первой патологии, до моделирования второй патологии (недели)	Срок от моделирования второй патологии до забоя (недели)	Общая длительность патологии (недели)	Число животных в группе (n)
I группа – интактные животные (контроль)				
-	-	-	-	10
II группа – инфаркт (И2-И6)				
И2	2	-	2	10
И4	4	-	4	10
И6	6	-	6	10
III группа – диабет (Д2-Д6)				
Д2	2	-	2	10
Д4	4	-	4	10
Д6	6	-	6	10
IV группа – инфаркт+диабет (И2-6+Д2-6)				
И2Д2	2	2	4	10
И2Д4	2	4	6	10
И2Д6	2	6	8	10
И4Д2	4	2	6	10
И4Д4	4	4	8	10
И4Д6	4	6	10	10
И6Д2	6	2	8	10
И6Д4	6	4	10	10
И6Д6	6	6	12	10
V группа – диабет+инфаркт (Д2+И2-4)				
Д2И2	2	2	4	5
Д2И4	2	4	6	5

В процессе всего экспериментального исследования крысы находились в стандартных условиях вивария, при достаточном объеме воды и пищи и ежедневной смене подстилочного материала, под постоянным контролем состояния животных. Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии положениям Федерального Закона «О защите животных от жестокого обращения» (1997 г.), Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используе-

мых для экспериментальных и других научных целей (ЕЭС, Страсбург, 1985 г.), приказу Министерства здравоохранения РФ № 267 «Правила лабораторной практики в Российской Федерации» (2003 г.), приказу Министерства здравоохранения СССР № 755 «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (1977 г.).

Моделирование экспериментального инфаркта миокарда

Моделирование инфаркта миокарда проводили перевязкой левой коронарной артерии [Кондратьева Д.С. и др., 2005].



Рис. 1. Типичный вид интактного и постинфарктного сердца крысы
А – сердце контрольного животного; В – сердце животного через 40 суток после коронароокклюзии; 1 – место наложения лигатуры; 2 – зона рубца

Постинфарктный фиброз миокарда развивался на 40-е сутки после наложения лигатуры (рис.2). Развитие постинфарктных изменений верифицировали морфологически, гипертрофию миокарда определяли по соотношению массы сердца к массе тела (M_c/M_t) и массы левого желудочка к массе сердца ($M_{лж}/M_c$) [Афанасьев С.А. и др., 2012].

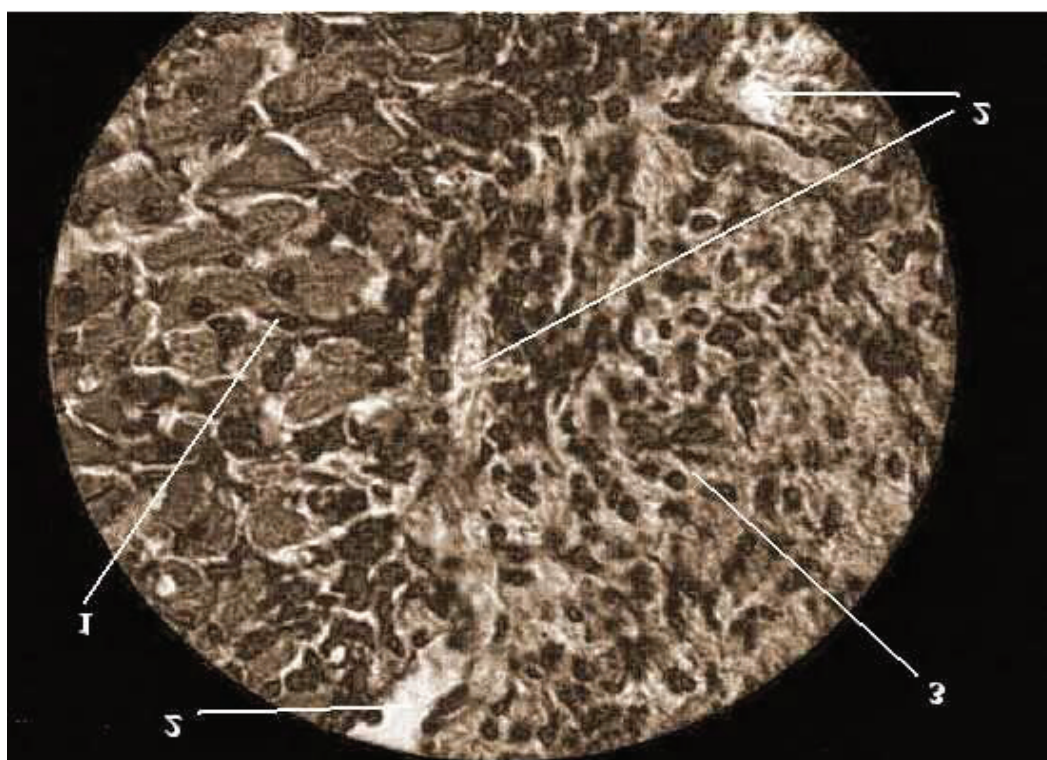


Рис. 2. Поперечный срез левого желудочка крысы, через 6 недель после экспериментальной коронароокклюзии 1 – структурно сохранившийся миокард; 2 – пограничная зона; 3 – фиброз. Окраска гематоксином и эозином, $\times 200$

При этом нужно отметить, что основная смертность животных наблюдалась в первую неделю после операции, в дальнейшем возникали единичные случаи гибели животных. Зона некроза левого желудочка составляла, в среднем, около 12% от общей массы левого желудочка (табл. 3).

Таблица 3

Весовые показатели животных на 40-е сутки
после экспериментальной коронароокклюзии миокарда крысы

Показатель	Контроль	Коронароокклюзия
Вес тела (г)	287 \pm 23,1	236,6 \pm 3,1
Вес сердца (мг)	955,9 \pm 44,7	1491,2 \pm 21,0 *
Вес левого желудочка (мг)	620,5 \pm 35,4	962,2 \pm 14,0*
Вес поврежденного участка (мг)	0	109,1 \pm 1,5*

Примечание: данные представлены в виде $M \pm m$; * – достоверные отличия от контроля, выявленные на основе непараметрического критерия Манна–Уитни ($p < 0,05$).

Моделирование сахарного диабета

Сахарный диабет индуцировали однократным введением стрептозотоцина («Sigma», США) в дозе 60 мг/кг внутривенно, разведенного 0,01 моль/л цитратным буфером (pH 4,5) [Дубилей Т.А. и др., 2007].

Моделирование сочетанной патологии

Модель сочетанной патологии была разработана по собственной технологии, на основе известных технологий моделирования инфаркта миокарда и стрептозотин-индуцированного диабета [Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Попов С.В., 2012]. Главной задачей, помимо исследования в группах контроля и отдельных патологий, являлось исследование экспериментальной модели сочетанной патологии в двух модификациях: а) предшествование инфаркта миокарда диабету, б) предшествование диабета инфаркту миокарда. Изучение материала предполагало исследование в следующих точках:

1. Через 2, 4 и 6 недель после экспериментального инфаркта моделировали сахарный диабет введением стрептозотоцина и исследовали материал через 2, 4 и 6 недель после моделирования диабета. Таким образом, сформировали 9 подгрупп IV экспериментальной группы (табл. 1).
2. Аналогичным образом, была сделана попытка сформировать еще 9 подгрупп V экспериментальной группы, в которых диабет предшествует инфаркту (табл. 1). Однако по причине высокой смертности животных в этой экспериментальной модели удалось получить только две подгруппы животных (табл. 1). Выживаемость отдельных животных в других подгруппах была статистически не значима (рис. 3).

Получение изолированных кардиомиоцитов

Изолированные кардиомиоциты являются во многом идеальным объектом исследования молекулярных механизмов функциональной активности кардиомиоцитов. Сложный ансамбль молекулярно-клеточных событий, обуславливающих согласованное протекание физиологических процессов в кардиомиоцитах, опосредуется через большое количество биологических медиаторов, соответствующие им рецепторы и сигнальные трансдукторные пути.

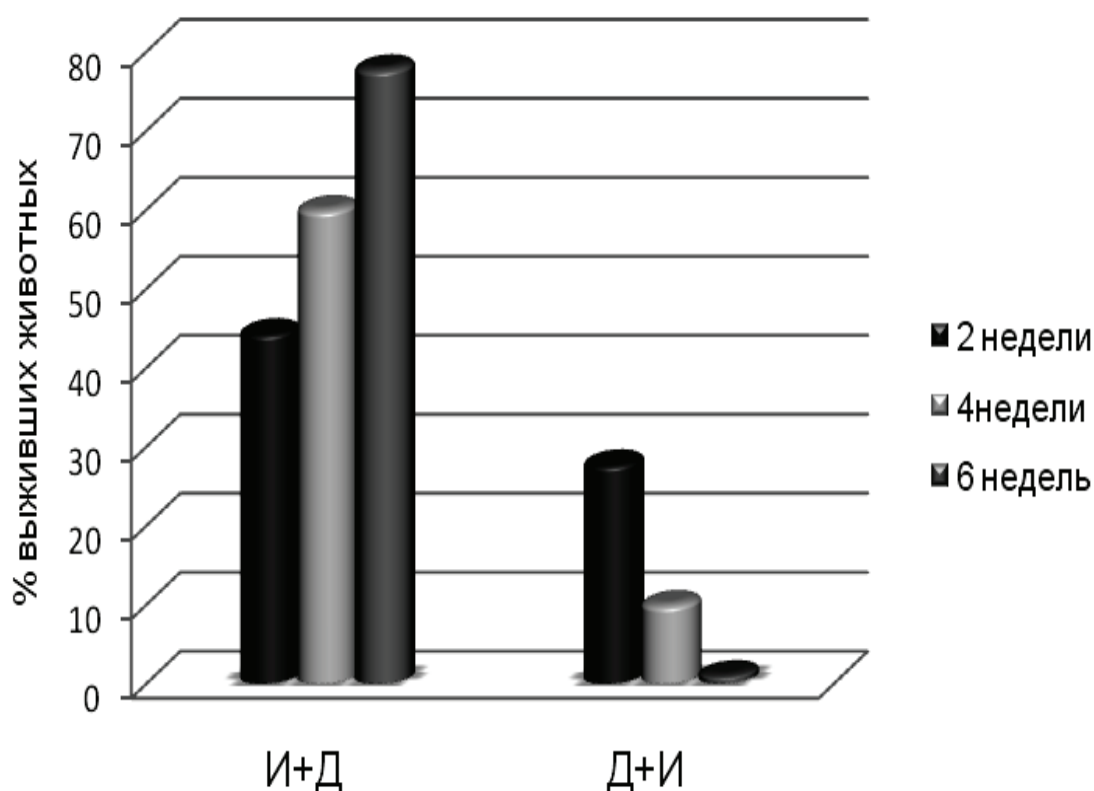


Рис. 3. Динамика выживаемости животных в эксперименте в группах сочетанной патологии

Примечание. 2, 4, 6 недель – срок первой патологии, на котором производили моделирование второй патологии; И+Д – «инфаркт+диабет» (IV группа); Д+И – «диабет+инфаркт» (V группа).

Изолированные кардиомиоциты обладают тем преимуществом, что свободны от влияния биологически активных веществ (в норме имеющихся в плазме и межклеточной жидкости), находятся в контролируемом спокойном состоянии, когда на их функциональную активность не оказывают влияние другие типы клеток. Все это позволяет более уверенно идентифицировать механизмы действия тех или иных модуляторов функциональной активности клеток в норме и при патологии.

Выделение кардиомиоцитов требует соблюдения достаточно жестких условий, таких как температура, ионный состав среды хранения, pH, содержания кислорода в среде и т. д. Для получения качественных и жизнеспособных кардиомиоцитов исследователи включают в стандартный солевой раствор множество дополнительных компонентов, таких как различные аминокислоты, антибиотики, витамины, АТФ, ЭГТА и т. п. Все это приводит к появлению многочис-

ленных модификаций метода получения изолированных кардиомиоцитов. На основании проведенного обширного анализа была разработана собственная методика получения изолированных кардиомиоцитов (патент РФ на изобретение № 2279145 от 27.06.06).

Подсчет жизнеспособных клеток проводили в гемоцитометре, используя для окраски поврежденных клеток 0,4% трипановый синий. Клетки просматривали в световом микроскопе «Биолан-1» (Россия) и фотографировали цифровым фотоаппаратом Hitachi (Япония).

Для исследования морфологии клеток при помощи электронного микроскопа свежевыделенные клетки осаждали при 50g в течение 5 минут и осадок фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом в 0,1 М растворе какодилата натрия, pH 7.4 при 4 °C. После фиксации клетки дважды отмывали в какодилатным буфером, pH 7,4, затем фиксировали в 1% растворе четырехокси осмия с последующим двукратным отмыванием какодилатным буфером. Полученный материал дегидратировали в этиловых спиртах восходящей концентрации. Препараты заливали в арадилат. Ультратонкие срезы толщиной 30–60 нм готовили на ультратоме «Ultrotom 111», наносили на сетки с формваровым покрытием и контрастировали 2% уранил-ацетатом и цитратом свинца. Полученные препараты просматривали в электронном микроскопе «JEM-100CX11» с апертурной диафрагмой 25–30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Использование предлагаемого способа, позволяет получать 10–12 млн. изолированных кардиомиоцитов из одного сердца. Процент жизнеспособных клеток составлял 70–80%. Клетки имели классическую цилиндрическую форму, хорошо выраженную поперечно-полосатую исчерченность и неровные концы в области вставочных дисков (рис. 4).

Размеры клеток варьировались от 10 до 25 мкм в ширину и от 50 до 120 мкм в длину.

На электронных микрофотографиях хорошо просматривалась типичная структурная организация кардиомиоцита (рис. 5). Сарколемма, митохондрии, саркоплазматический ретикулум (СПР) и миофибриллы имели характерный вид; наблюдались упорядоченная организация саркомеров и хорошо выраженные Z-полоски, четкое расположение миофиламентов (рис. 5, а).

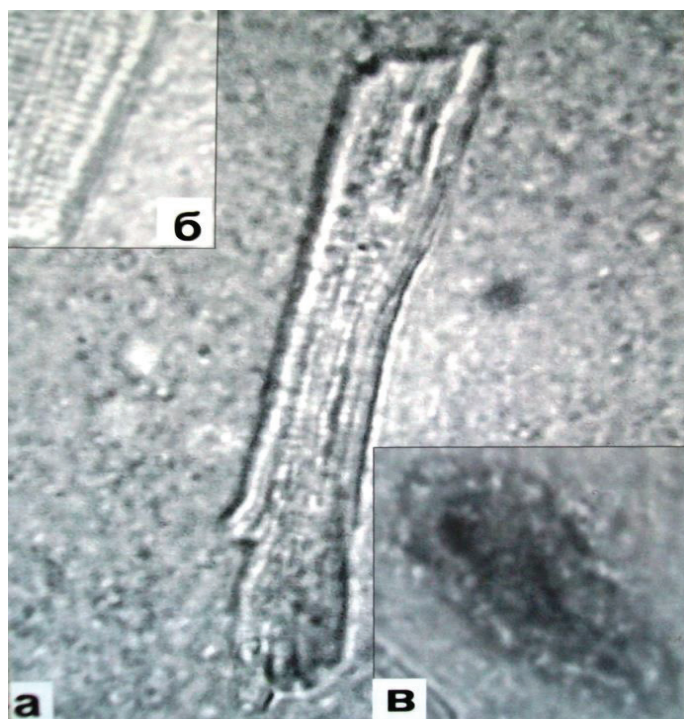


Рис. 4. Изолированный кардиомиоцит взрослой крысы в среде хранения с 0,4% трипановым синим

а – нормальный кардиомиоцит, $\times 1000$;
б – участок нормального кардиомиоцита, $\times 1500$;

в – погибший кардиомиоцит, заполненный красителем

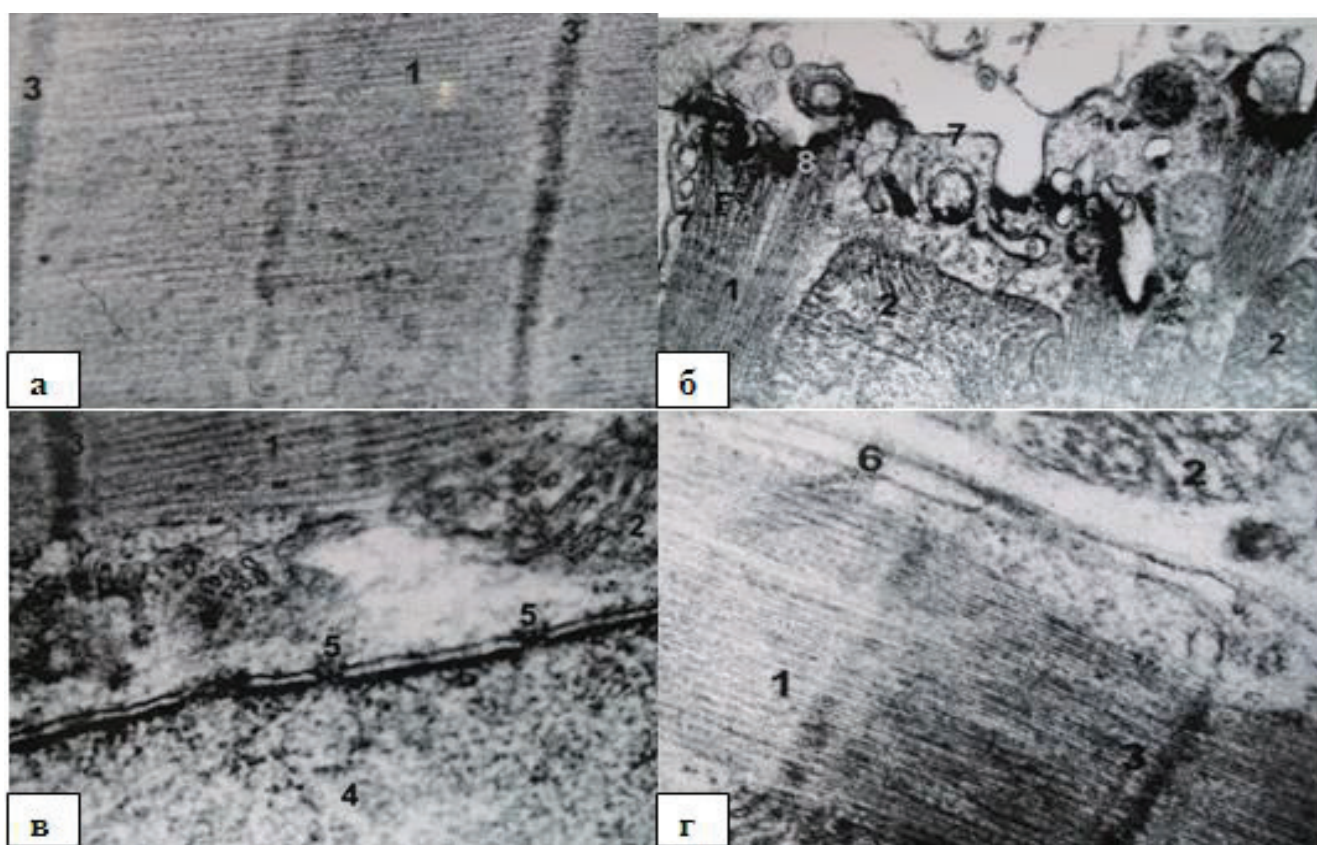


Рис 5. Продольный срез изолированного кардиомиоцита а – участок миофибриллы, $\times 32500$; б – область вставочных дисков, $\times 26500$; участок ядра с ядерными порами, $\times 53300$; участок миофибриллы с прилегающим саркоплазматическим ретикуломом и митохондриями, $\times 53800$.

1 – миофибриллы; 2 – митохондрии; 3 – Z-полоска; 4 – ядро; 5 – поры в ядерной мембране; 6 – саркоплазматический ретикулум; 7 – сарколемма; 8 – место прикрепления миофибрилл

Кардиомиоциты имели ядро овальной формы, расположенное почти по центру клетки, на его мембране хорошо различаются нормально расположенные ядерные поры (рис. 5, в). В области вставочных дисков мембрана имеет неоднородную структуру (рис. 5, б). Миофибриллы разделены СПР и митохондриями (рис. 5, г), достаточно плотно упакованы и занимают практически все внутриклеточное пространство.

Полученные результаты свидетельствовали о нормальной структуре выделенных клеток и позволили использовать предложенный метод для мягкого разделения ткани сердца на отдельные кардиомиоциты.

Скорость потребления кислорода кардиомиоцитами исследовали полярографическим методом, используя в качестве среды инкубации Кребс–Хенсалайт буфер с концентрацией кальция 2 мМ.

Функциональная активность органов и согласованное протекание физиологических процессов в клетках обусловлено, в первую очередь, многочисленными процессами, протекающими в МХ. МХ являются главным участком энергопродукции в клетках. Мутации генов ядерного и митохондриального геномов (под контролем которых одновременно находятся белки дыхательной цепи) приводят к нарушению процесса окислительного фосфорилирования, и как следствие, ухудшению энергетического метаболизма, что служит «благоприятным» фоном для возникновения различных патологических состояний.

МХ, полученные из сердечной мышцы, имеют некоторые преимущества перед МХ других тканей: они остаются стабильными, сохраняя способность к окислению и фосфорилированию в течение недели при температуре хранения -4°C [Pallotti F., Lenaz G., 2001].

Скорость поглощения кислорода исследовали в сахарозной среде инкубации (250 мМ сахароза, 10 мМ KCl, 5 мМ KH_2PO_4 , 5 мМ сукцинат, 1 мМ ЭГТА, 1,2 мМ MgCl_2 , 5 мМ HEPES, pH 7,4) полярографическим методом и рассчитывали в нмоль кислорода в мин на мг митохондриального белка. Измерения проводили в термостатируемой ячейке объемом 1 мл при температуре 37°C и постоянном перемешивании при помощи магнитной мешалки. Состояние полученных митохондрий оценивали по скорости поглощения кислорода митохондриями в среде инкубации в присутствии и отсутствии АДФ. Реакцию начинали добавлением суспензии митохондрий (0,5–1 мг белка). Концентрацию белка в пробе определяли методом Лоури.

Концентрации используемых добавок при внесении в среду инкубации:

- АДФ – 200 мкмоль/л;
- Арахидоновая кислота – 20 мкмоль/л;
- Атрактилозид – 2 мкмоль/л;
- A23187 – 0,2 мкг/мл (в комбинации с 1 ммоль/л ЭГТА);
- Бромфенацилбромид – 15 мкмоль/л;
- Карбоксиатрактилат – 2 мкмоль/л;
- Мелиттин – 0,5 мкг/мл;
- Олигомицин – 2 мкг/мл;
- Пальмитиновая кислота – 20 мкмоль/л;
- Ротенон – 5 ммоль/л;
- Циклоспорин А – 2 мкг/мл.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИОКАРДА ЖИВОТНЫХ

Изучение адаптивных реакций миокарда в настоящем исследовании предполагает рассмотрение структурно-метаболических изменений миокарда в динамике развития не столько отдельных патологий, сколько их сочетания при разной последовательности и вариации сроков. Такое исследование представляется обоснованным с той точки зрения, что моделирование инфаркта миокарда является непосредственным вмешательством в работу сердца, то есть прямым действием, в то время как моделирование диабета вызывает нарушение работы сердца опосредованно, через сложный ансамбль функционально-метаболических изменений метаболизма на уровне целого организма. В свою очередь, это предполагает возможность включения разных механизмов адаптации при развитии отдельных и сочетанных патологий. В этом плане, структурно-метаболические изменения при отдельных патологиях служат скорее своего рода контролем для сравнения с процессами, протекающими при сочетании патологий.

Моделирование отдельных патологий неизбежно сопровождалось гибелью животных, примерно одинаковой при отдельных и сочетанных патологиях, в первые дни после воздействия. Однако в дальнейшем было обнаружено, что при раздельных патологиях среди выживших животных в дальнейшем наблюдались лишь единичные случаи гибели крыс на всем протяжении исследования. При сочетании патологий наблюдалась иная картина: вариант диабет+инфаркт характеризовался более агрессивным течением в сравнении с сочетанием инфаркт+диабет. Как видно из диаграммы (рис. 3), максимальная выживаемость животных с исходным диабетом была ниже минимальной у животных с обратной последовательностью формирования сочетанной патологии. С увеличением срока диабета, на фоне которого производилась

коронароокклюзия, выживаемость в группе «диабет+инфаркт» резко снижалась. У животных с исходным инфарктом, с увеличением срока перед моделированием диабета, выживаемость при сочетании патологии «инфаркт+диабет», напротив, повышалась (рис. 3).

При этом нужно отметить, что уровень глюкозы в сыворотке крови сохранялся примерно на одинаково высоком уровне во всех экспериментальных группах с диабетом (табл. 4). Таким образом, очевидно, что разная выживаемость в обеих сериях обусловлена не столько гипергликемией, сколько способностью организма противостоять патологическому состоянию. Эти наблюдения привели к предположению, что такая реакция на разную последовательность сочетания патологий обусловлена разными адаптационными механизмами при прямом и опосредованном поражении сердца. Резкое нарушение кровоснабжения и инфаркт миокарда может предполагать активацию специфических для данного органа защитных реакций. Возможно, острая ишемия миокарда вследствие коронароокклюзии запускает в сердце генерализованную реакцию долгосрочной адаптации, процессы которой разворачиваются за определенный временной период и достигают максимальной мощности к стадии сформированного постинфарктного кардиосклероза. Напротив, постепенное нарастание метаболических изменений в кардиомиоцитах при развитии диабета приводит к хорошо известной в физиологии реакции привыкания (аккомодации), то есть отсутствию реакции на медленно нарастающий по силе раздражитель. Здесь нужно отметить, что, как будет показано в этом и последующем разделах, дальнейшие исследования подтвердили справедливость высказанного предположения.

Хроническая гипергликемия сопровождалась истощением животных группы «диабет»: средние крысы теряли в весе от 30 до 50% по отношению к контрольным животным (табл. 4). При сочетании диабета и инфаркта истощение животных также наблюдалось, однако снижение массы тела было менее выражено как в сравнении с контролем, так и с группой «диабет», независимо от последовательности и сроков моделируемых состояний (табл. 4). Наименьшая потеря веса наблюдается в группе «инфаркт+диабет», хотя и прослеживается тенденция к истощению по мере увеличения длительности суммарной патологии (табл. 4).

Таблица 4

Количество глюкозы в крови, масса тела и показатели гипертрофии миокарда у животных в экспериментальных группах

Подгруппы	Глюкоза, мм/л	Мт, г	Мс/Мт, мг/г	Млж/Мс, мг/мг
I группа – контроль				
-	7,4 (7,3;7,75)	272 (251; 345)	3,3 (3,1;3,4)	0,54 (0,52;0,59)
II группа - «инфаркт»				
И2	7,7 (6,93; 8,49)	287 (275;298)&	4,5 (4,3;4,9)*#&	0,60 (0,58;0,61)
И4	7,9 (7,9; 7,9)	300 (298; 318)&	5,3 (4,4;5,5)*&	0,62 (0,61;0,63)*
И6	8,9 (8,4; 10,7)	314 (310; 315)*&	5,7 (4,9;6,4)*&	0,67 (0,63;0,69)*
III группа – «диабет»				
Д2	23,1 (23,0; 25,1)*	172 (171; 180)*#	2,9 (2,7;2,9)#&	0,60 (0,57;0,63)
Д4	30,0 (27,4; 31,7)*	187 (179; 236)*#	3,2 (2,7;3,1)#	0,60 (0,59;0,63)
Д6	29,4 (29,0; 32,5)*	184 (183; 206)*#	3,1 (3,3;3,6)#	0,57 (0,56;0,60)#
IV группа – «инфаркт+диабет»				
И2Д2	33,3 (28,4; 33,3)*	283 (258;296)*#&	3,2 (3,0;3,3)#	0,57 (0,56;0,58)#
И2Д4	30,1 (19,2; 31,2)*	294 (274; 300)&	3,6 (3,5;3,8)#	0,60 (0,57;0,62)#
И2Д6	27,4 (24,1; 31,2)*	234 (184; 296)#	4,2 (3,8;4,4)#&	0,60 (0,57;0,63)
И4Д2	27,4 (26,3; 29,4)*	224 (218; 228)*#	3,2 (3,1;3,4)#	0,57 (0,56;0,60)#
И4Д4	31,5 (30,5; 33,3)*	257 (223; 272)#&	3,3 (3,0;3,3)#	0,57 (0,55;0,61)#
И4Д6	33,3 (33,3; 33,3)*	222 (206; 252)*#	4,7 (4,0;5,4)*#&	0,59 (0,56;0,60)#
И6Д2	32,5 (29,2; 33,3)*	207 (184; 209)*#	3,2 (3,1;3,2)#	0,57 (0,55;0,58)#
И6Д4	26,9 (26,2; 29,4)*	206 (179; 218)*#	4,3 (3,7;4,9)*#&	0,57 (0,56;0,59)#
И6Д6	33,1 (30,3; 33,2)*	215 (207; 222)#	4,3 (3,8;4,7)*#&	0,63 (0,57;0,67)
V группа – «диабет+инфаркт»				
Д2И2	33,1 (30,3; 33,2)*	215 (200; 226)*#	3,7 (3,5;3,8)*#	0,63 (0,61;0,66)*&
Д2И4	28,0 (27,3; 28,5)*	215 (189; 220)*#	3,7 (3,5;3,9)*#	0,62 (0,61;0,64)*&

Примечание. Мт – масса тела; Мс/Мт – соотношение массы сердца к массе тела; Млж/Мс – соотношение массы левого желудочка к массе сердца; значения исследуемых показателей представлены в виде медианы и интерквартильного размаха в виде Q2(Q1;Q3); * – различия статистически значимы (p<0,05) по отношению к контролю; # – различия статистически значимы

($p < 0,05$) при сравнении в экспериментальных группах с патологиями по отношению к соответствующему показателю в подгруппе Иб; & – различия статистически значимы ($p < 0,05$) в экспериментальных группах с патологиями по отношению к соответствующему показателю в подгруппе Дб).

Гипертрофию миокарда определяли по соотношению Мс/Мт и Млж/Мс.

Как видно из таблицы 4, выраженная гипертрофия миокарда наблюдается на стадии морфологически сформированного постинфарктного кардиосклероза (подгруппа Иб). В группе «диабет» признаков гипертрофии миокарда выявлено не было. При сочетании патологий на всех сроках наблюдается менее выраженная гипертрофия миокарда, как в группе «инфаркт+диабет», так и в группе «диабет+инфаркт» (табл. 4). Наиболее Развивающаяся гипертрофия миокарда, несомненно, имеет положительное значение, поскольку позволяет сохранить функцию органа, несмотря на заболевание – хорошо известная в клинике стадия компенсации. При дальнейшем развитии патологического процесса в органе возникают дистрофические изменения, происходит ослабление функции и, в конечном счете, когда адаптационные механизмы исчерпаны, наступает стадия декомпенсации и гибели организма.

Для ответа на вопрос, насколько серьезными являются структурные изменения миокарда у модельных животных при рассматриваемых патологиях, было проведено морфологическое исследование в группах с длительностью патологии не менее 6 недель (табл. 5), на светооптическом (рис. 6, 7) и электронномикроскопическом (рис. 8) уровнях.

В группах сочетанной патологии эти показатели были выражены гораздо меньше, чем при монопатологиях (табл. 5). При сочетанной патологии в миокарде отмечалось более упорядоченное и компактное расположение кардиомиоцитов (рис. 8). При этом межклеточные пространства были слегка расширены за счет тонких прослоек интерстициальной ткани, представленных тонкими, извилистыми коллагеновыми волокнами и фибробластами (рис. 8, А). Диффузный и мелкоочаговый фиброз миокарда, а также периваскулярный фиброз в миокарде крыс с сочетанной патологией были выражены слабо (рис. 7, Б-В; табл. 5) и регистрировались лишь в половине случаев. Мононуклеарная инфильтрация миокарда также была обнаружена лишь в половине случаев наблюдения и характеризовалась более слабой, чем в группах с монопатологиями, выраженностью (рис. 6, 7; табл. 5).

Таблица 5

Однофакторный дисперсионный анализ данных морфологического исследования миокарда крыс

Показатель	Контр	Инфаркт (Пб)	Диабет (Дб)	Инфаркт+диабет			Пары (LSD test)
				П4Д2	П4Д4	П4Д6	
				(4)	(5)	(6)	
	(1)	(2)	(3)				
Дифф. фиброз миокарда (баллы)	0	1,0±0,3	0,8±0,2	0,4±0,2	0,4±0,2	0,2±0,1	1-2 p=0,01 1-3 p=0,02 2-6 p=0,02 p<0,05
Мелко-очаговый фиброз миокарда (баллы)	0	1,2±0,4	1,0±0,6	0,4±0,2	1,0±0,3	0,4±0,2	1-2 p=0,05 1-3 p=0,03 1-5 p=0,03 2-7 p=0,03 p<0,05
Периваскулярный фиброз(баллы)	0,6±0,4	0,6±0,3	0,8±0,3	0,8±0,2	0,6±0,2	0,8±0,2	-
Миоцитоллиз (баллы)	0,4±0,2	1,6±0,2	1,2±0,4	1,0±0,1	1,0±0,1	0,8±0,2	1-2 p<0,01 1-3 p=0,01 1-4,5 p<0,05 2-4,5 p<0,05 2-3,6,7 p<0,01 p<0,05
Миоцитоллизис (баллы)	0	1,2±0,2	0,6±0,3	0,4±0,2	0,4±0,2	0±0	1-2,3,5 p<0,01 2-(3-7) p<0,01 3-6,7 p<0,05 5-6,7 p=0,01 p<0,05
Глыб.распад КМЦ (баллы)	0,4±0,2	1,4±0,2	1,2±0,2	0±0	0±0	0±0	1-2,3 p<0,01 2-4,5,6,7 p<0,01 3-4,5,6,7 p<0,01 p<0,05

Окончание таблицы 5

Инфильтрация стромы миокарда (баллы)	0,2±0,1	1,8±0,48	1,0±0,01	0,4±0,22	0,4±0,22	0,4±0,2	0,6±0,24	1-2 p<0,01 2-3 p=0,05 2-4 p<0,01 2-6 p<0,01 2-7 p<0,01 3-6 p=0,02 4-5 p=0,02 5-6 p<0,01 5-7 p=0,02 p<0,05
Количество лимфоцитов в 1 п/зр, х400	15,6±1,6	23,6±2,2	21,7±1,0	16,6±3,1	19,7±1,6	17,4±1,5	18,9±1,1	1-2 p<0,01 1-3 p<0,01 1-5 p<0,05 2-4,5,6,7 p<0,01 3-6,7 p<0,01 3-7 p=0,04 4-5 p=0,02 p<0,05
Количество фибробластов в 1 п/зр, х400	10,2±0,8	17,0±3,6	15,6±2,5	14,0±3,5	14,3±3,3	12,2±3,0	11,86±1,8	1-2,3,4,5 p<0,05 2-6,7 p<0,01 3-7 p=0,01 5-7 p=0,04 p<0,05
Количество капилляров в 1см ² миокарда	5300±888	10174±185	13130±1235	11044±697	11739±407	11304±555	12870±500	1-2 p<0,01 1-(3-7) p<0,01 2-3 p<0,01 2-7 p<0,01 3-4 p=0,02 3-6 p<0,05 4-7 p<0,05 p<0,05

Примечание. Результаты представлены как $M \pm SD$, где M - среднее арифметическое, SD – среднеквадратичное отклонение.

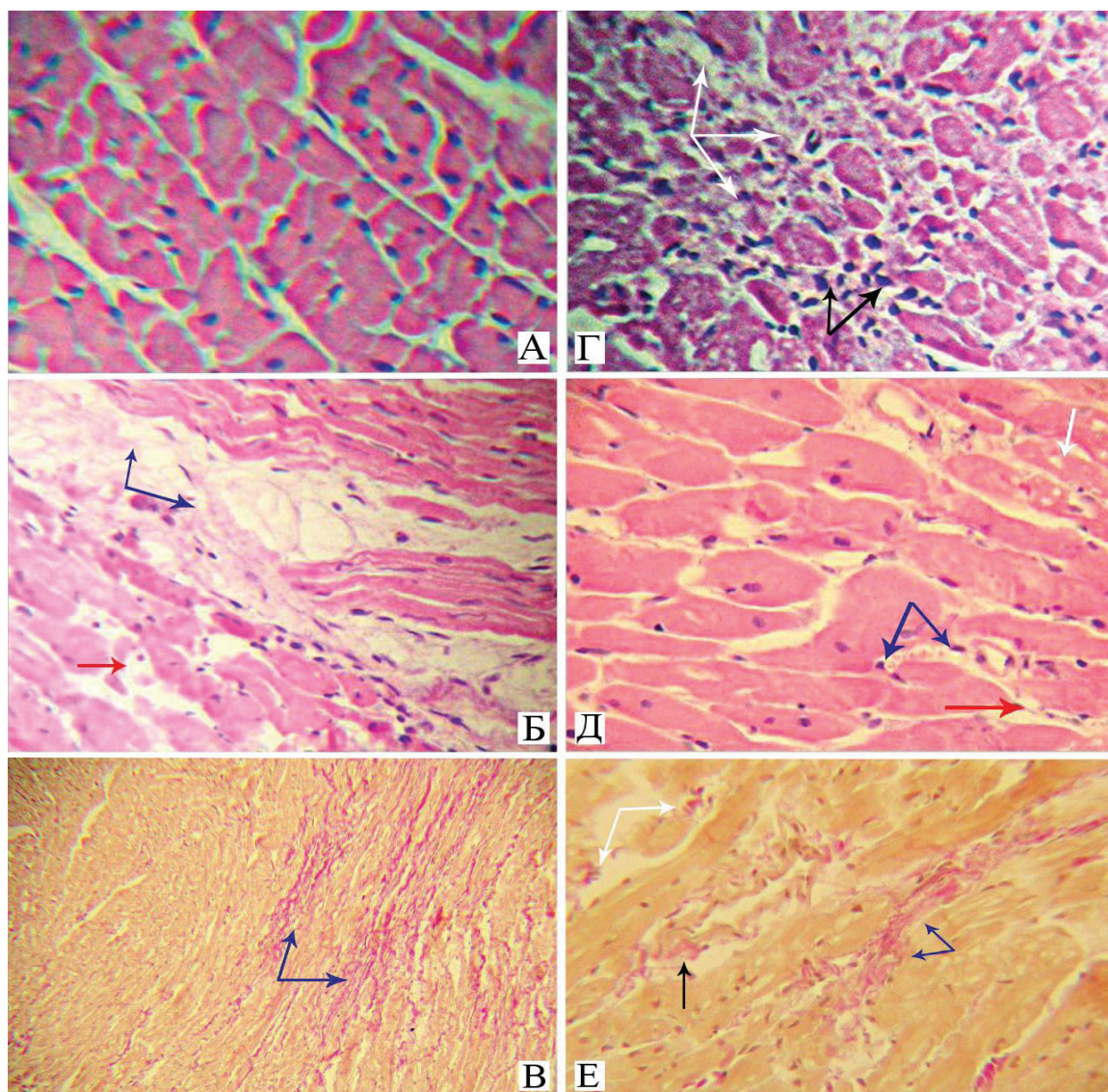


Рис. 6. Миокард левого желудочка в контрольной группе (А), группах с инфарктом (Б, В, Г) и диабетом (Д, Е). А – I группа, интактный миокард, окраска гематоксилин-эозин, $\times 400$; Б – II группа, диффузный фиброз миокарда (синие стрелки), миоцитоллиз мышечных волокон (красная стрелка), окраска гематоксилин-эозин, $\times 200$; В – II группа, диффузный фиброз миокарда (синие стрелки), окраска пикрофуксин, $\times 100$; Г – II группа, мелкоочаговый фиброз миокарда (белые стрелки), мононуклеарная инфильтрации (черные стрелки), окраска гематоксилин-эозин, $\times 200$; Д – III группа, слабо выраженная мононуклеарная инфильтрация миокарда (синие стрелки), вакуолизация цитоплазмы кардиомиоцитов (белая стрелка), миоцитоллиз (красная стрелка), окраска гематоксилин-эозин, $\times 400$; Е – III группа, диффузный (белые стрелки) и мелкоочаговый (синие стрелки) фиброз миокарда, периваскулярный фиброз (черная стрелка), окраска пикрофуксин, $\times 400$.

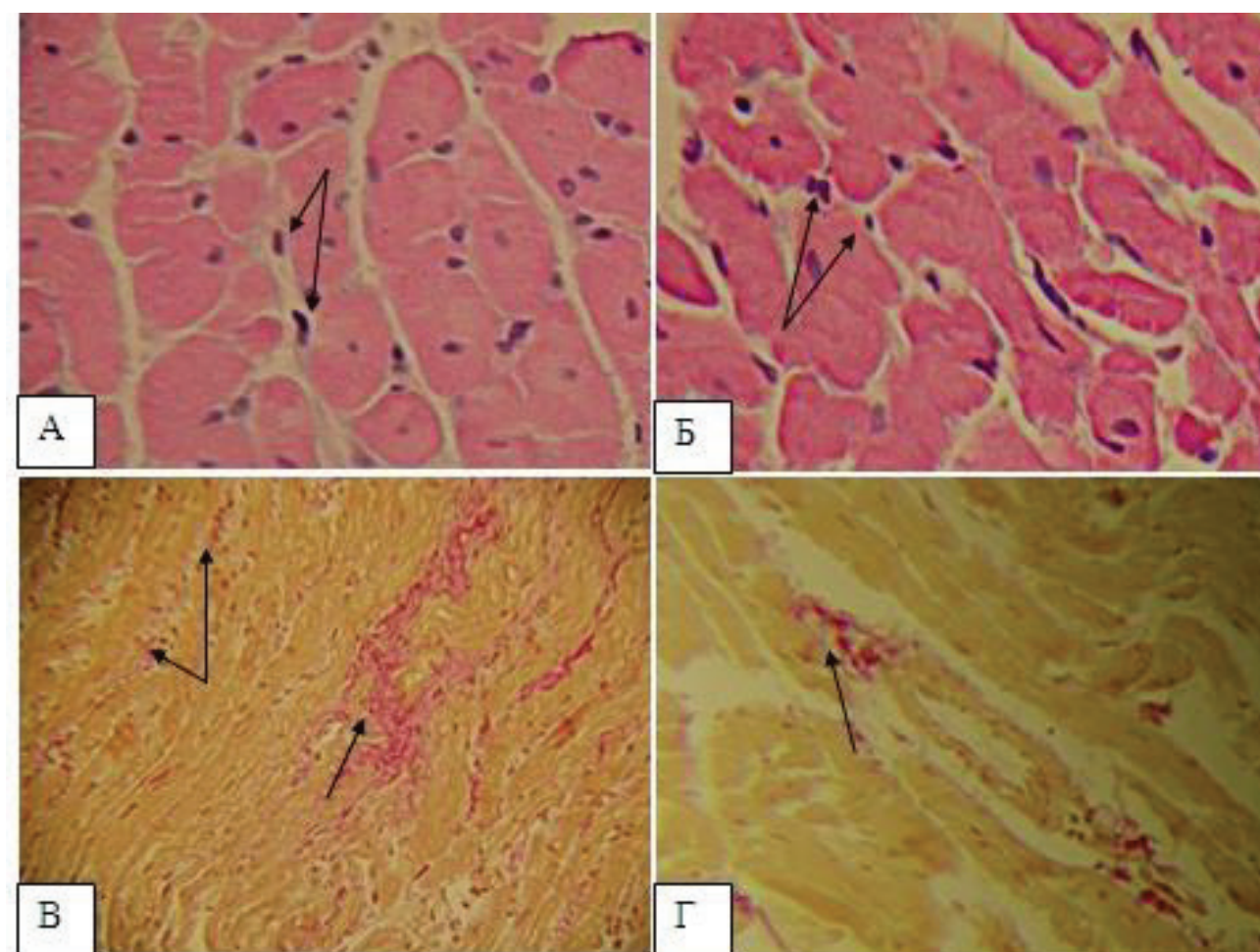


Рис. 7. Миокард левого желудочка в группах с сочетанием патологий «инфаркт+диабет» (А, В) и «диабет+инфаркт» (Б, Г).

А – IV группа, слабо выраженная мононуклеарная инфильтрация миокарда, отсутствие выраженности дегенеративных изменений кардиомиоцитов, окраска гематоксилин-эозин, $\times 400$; Б – V группа, слабо выраженная мононуклеарная инфильтрация миокарда, слабо выраженный миоцитоллиз; окраска гематоксилин-эозин, $\times 400$; В – IV группа, слабо выраженный диффузный и мелкоочаговый фиброз миокарда, окраска пикрофуксин, $\times 100$; Г – V группа, слабо выраженный периваскулярный фиброз, окраска пикрофуксин, $\times 200$

В обеих группах с сочетанной патологией в миокарде не было обнаружено признаков глыбчатого распада миофибрилл (табл. 5). В группах с монопатологиями отмечался полиморфизм ядер, утрата кардиомиоцитами поперечной исчерченности (рис. 7, Б-Е). В условиях формирования сочетанной патологии дегенеративные изменения кардиомиоцитов характеризуются меньшей степенью выраженности (рис. 7; табл. 5).

Выявленные различия в морфологических параметрах сердца при разных патологиях и их сочетании могут быть обусловлены тем, что компенсаторно-приспособительные процессы в миокарде при разви-

тии патологий сочетают деструктивные изменения с регенераторными реакциями [Пауков В.С., Фролов В.А., 1982; Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Непомнящих Г.И., 1986]. Возможно, что наблюдаемые структурные различия при отдельных и сочетанных патологиях обусловлены разной активностью процессов ангиогенеза и, соответственно, интенсивностью кровообращения миокарда. Для проверки этого предположения было проведено исследование васкуляризации миокарда левого желудочка путем подсчета количества капилляров на 1 см^2 среза (табл. 5).

Наименьшее количество капилляров обнаружено у животных контрольной группы, наибольшее – в группах «диабет» и «диабет+инфаркт». В группах «инфаркт» и «инфаркт+диабет» увеличение количества капилляров было несколько меньше, однако и в этих случаях данный показатель почти в два раза превышал контрольные значения.

Таким образом, развитие и постинфарктного фиброза и сахарного диабета действительно инициирует статистически значимое усиление васкуляризации миокарда. При сочетанном развитии постинфарктного фиброза и сахарного диабета плотность микроциркуляторного русла в миокарде выше, чем при моделировании только инфаркта. Можно предположить, что улучшение васкуляризации миокарда при сочетанной патологии развивается за счет активации разных эндогенных механизмов. Возможно, что в случае моделирования инфаркта менее выраженная васкуляризация миокарда обусловлена локальным повреждением сосудистого русла, вызванного перевязкой коронарной артерии, и, соответственно, формированием коллатералей в обход поврежденного участка [Сисакян А.С. и др., 2008; Fukuda S., 2004]. Для диабета 1 типа характерны выраженные мультиорганные микроангиопатии [Юшков П.В., Опаленов К.В., 2001], что обеспечивает включение центральных механизмов ангиогенеза и максимально выраженную реакцию. Косвенным подтверждением этого предположения является тот факт, что при сочетании патологий в любой последовательности не наблюдается усиления ангиогенеза в сравнении с группой «диабет», но при этом плотность капилляров выше, чем в группе «инфаркт» (табл. 5).

Капиллярная сеть играет ключевую роль в транспорте кислорода и энергетических субстратов в КМЦ. Функциональную состоятельность мышечных клеток, в особенности КМЦ, определяет, в первую очередь, их энергетическое обеспечение. Соответственно, обнару-

женные структурные изменения отражают перестройку метаболического аппарата клетки. Общеизвестно, что основным поставщиком энергии в клетке являются митохондрии. Соответственно, изменения в структуре митохондрий, межмитохондриальных связей, плотности контакта с миофибриллами, могут быть как следствием, так и определяющим фактором в формировании адаптивного ответа при отдельных и сочетанных патологиях.

Для определения интенсивности и отличий деструктивных изменений в митохондриальном и сократительном аппарате кардиомиоцитов при моделировании инфаркта и диабета на ультраструктурном уровне было проведено электронно-микроскопическое исследование (рис. 8). При обеих монопатологиях наблюдались типичные дегенеративные изменения митохондрий [Пауков В.С., Фролов В.А., 1982; Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Непомнящих Г.И., 1986; Сапрунова, 2008]: набухание органелл, просветление, вымывание и гомогенизация митохондриального матрикса, деструкция крист (рис. 8, В, Д). Обращает на себя внимание выраженная разобщенность в расположении митохондрий, как между собой, так и контакта с миофибриллами во II группе (рис. 8, В); в III группе, напротив, наблюдалась «гомогенизация» массы митохондрий: визуально трудно четко выделить границы органелл (рис. 8, Д). Помимо нарушений в структуре митохондрий, присутствуют нарушения в сократительном аппарате кардиомиоцитов: смещение, «расплетание», неправильная ориентация, разрывы и фрагментация миофибрилл (рис. 8, В–Е).

Более выраженная деградация миофибрилл наблюдается во II группе: часто встречаются хаотично расположенные тонкие волокна, с выраженными просветами, разделенные на отдельные «пучки» (рис. 8, Б, В).

В III группе миофибриллы расположены сравнительно более упорядоченно (рис. 8, В), однако и в этом случае наблюдается их выраженное «расплетание» (рис. 8, Г). Согласно существующим представлениям, подобные изменения характерны для миокарда при повышенной функциональной нагрузке, и могут свидетельствовать не только о деградации, но и о гиперфункции клеточных органелл, в том числе и митохондриального аппарата [Пауков В.С., Фролов В.А., 1982; Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Непомнящих Г.И., 1986]. Однако наблюдаемые различия в изменениях структуры митохондрий и миофибрилл при отдельных патологиях свидетельствуют о

качественно разных реакциях миокарда на прямое (II группа) и опосредованное (III группа) повреждение миокарда.

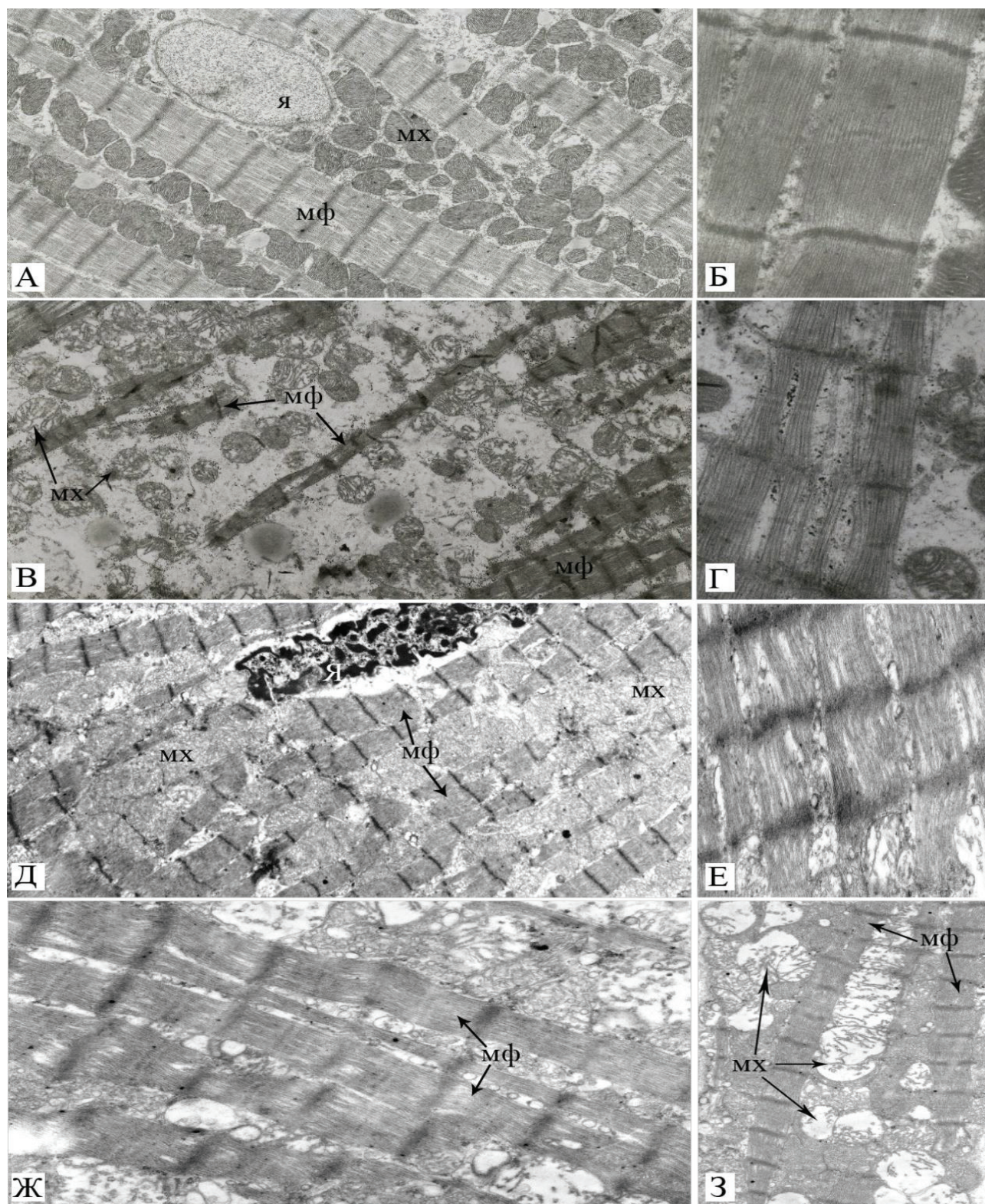


Рис. 8. Структура кардиомиоцитов интактного (А, Б), постинфарктного (В, Г), диабетического (Д, Е) и при сочетанной патологии (Ж, З) миокарда крыс
Увеличение: А, В, Д, З – $\times 1000$; Ж – $\times 1500$; Б – $\times 5000$; Г – $\times 4000$; Е – $\times 3000$.
Сокращения: Я – ядро, МХ – митохондрии, МФ – миофибриллы

Изучение ультраструктуры кардиомиоцитов IV группы, при сочетании «инфаркт+диабет» выявило некоторое отличие в выраженности деструктивных изменений митохондрий и миофибрилл, в сравнении с монопатологиями (рис. 8). При сочетании патологий наблюдалось сравнительно упорядоченное расположение миофибрилл, с правильной поперечной исчерченностью и относительно плотной упаковкой миофиламентов (рис. 8).

Большинство митохондрий имело просветленный матрикс, нарушенную пространственную ориентацию крист; часто встречаются крупные митохондрии с разрушенными кристами. Важно отметить, что в большинстве случаев митохондрии располагались цепочкой между миофибриллами, образуя с ними тесный контакт, как это характерно для интактных кардиомиоцитов (рис. 8, 3).

Считается, что подобные изменения митохондриального аппарата в кардиомиоцитах (гетерогенность ультраструктуры и популяции митохондрий, сохранение системы «митохондриального ретикулума»), могут являться проявлением эндогенных механизмов выживания клетки при длительной гипоксии миокарда [Сапрунова В.Д., 2008]. Предполагается, что в условиях хронической гипоксии одновременно происходит запуск двух разнонаправленных процессов:

- 1) митоптоза, направленного на выбраковку митохондрий с нарушенной функциональной активностью, а также митохондрий, ставших лишними для клеток в условиях недостатка кислорода;
- 2) образования новых митохондрий, направленного на сохранение хотя бы части органеллы в условиях тяжелого стрессорного воздействия [Сапрунова В.Д., 2008].

Можно предположить, что выявленные при сочетанной патологии изменения в структуре митохондрий свидетельствуют о запуске подобных процессов.

Таким образом, проведенное исследование показало, что при экспериментальной ишемической и диабетической кардиомиопатии в миокарде наблюдаются сходные структурные изменения. Однако, при сочетании патологических процессов, когда на фоне сформированного постинфарктного фиброза развивается диабет, структурные нарушения миокарда в сравниваемые сроки оказываются менее выраженными, что, видимо, свидетельствует о его повышенной сопротивляемости к патологическому воздействию и сохранению инотропной функции в этих условиях.

Полученные данные по изменению рассмотренных морфометрических и структурных параметров не позволяют самостоятельно ответить на вопрос, почему при сочетании инфаркт+диабет есть проявления адаптивной компенсации, пусть и не на всех стадиях развития патологий, а при обратном сочетании, диабет+инфаркт, такой реакции не наблюдается. Очевидно, что ответ нужно искать не в структурных изменениях, а в разветвленной системе функционально-биохимических механизмов регуляции жизнедеятельности клетки.

ГЛАВА 9

РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПОДДЕРЖАНИИ МЕМБРАННОГО ГОМЕОСТАЗА КЛЕТОК СЕРДЦА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Влияние жирных кислот на скорость поглощения кислорода митохондриями сердца

Как показывает обзор современной литературы, работу сердца определяет сбалансированность метаболизма ЖК. Основной пул ЖК преимущественно вовлечен в окислительные энергетические процессы и поддержание мембранного гомеостаза КМЦ, способствуя, таким образом, нормальной электрофизиологической активности мембран и сохранению сократительной активности миокарда.

Известно, что мембранный гомеостаз КМЦ может нарушаться при некоторых патологических состояниях, сопровождающихся накоплением ЖК или их производных в тканях сердца, в частности при ишемии миокарда и сахарном диабете [Александров А.А. 2003; Ventura-Clapier R., Garnier A., Veksler V., 2003; Lopaschuk G.D., и др. 2010]. Одним из универсальных процессов поддержания мембранного гомеостаза при различных нарушениях метаболизма, являются реакции деацилирования/реацилирования, с участием фосфолипаз. В ответ на изменение концентрации и соотношения ЖК происходит реорганизация липидного состава мембраны с целью создания оптимальных условий для сохранения функциональной активности внутриклеточных органелл и клетки в целом [Grynberg A., 1999].

До настоящего исследования не было проведено исследования прямого влияния СЖК на клеточное дыхание в моделируемых условиях, и не рассматривалось накопление СЖК и его последствий на метаболизм миокарда в процессе развития патологии. Значимость та-

кого исследования определяется тем, что в настоящее время хорошо изучен только контролирующий механизм поступления СЖК в клетки, но неизвестно, каким образом может осуществляться контроль их утилизации. До сегодняшнего дня существуют только предположения о существовании таких механизмов в сердце на уровне клетки: в частности, предполагается регуляция активности ферментов продуктами метаболизма ЖК [Lopaschuk G.D. и др., 2010]. С другой стороны, на фоне основной массы экспериментальных работ, относительно редко рассматриваются процессы в миокарде при сочетании патологий в хроническом эксперименте. Исходя из этих соображений, представляется важным изучить прямое влияние СЖК на поглощение кислорода изолированными клетками и МХ сердца на разных моделях и стадиях процесса адаптации к экспериментальной ишемии миокарда.

При исследовании свободного окисления МХ сердца обнаружено, что во всех экспериментальных группах, в сравнении с контролем, наблюдается увеличение скорости потребления кислорода (табл. 6, колонка $V_{\text{сукцинат}}$). При этом интенсивность потребления кислорода нарастает в зависимости от длительности течения патологии. Такая временная зависимость наблюдается как при развитии отдельных патологий, так и при их сочетании (табл. 6). Более выраженный прирост скорости потребления кислорода во времени наблюдается в группах с отдельными патологиями (II и III) в сравнении с их сочетанием (группы IV и V), при этом в III группе этот процесс более быстрый, чем во II (табл. 6). Такое увеличение потребления кислорода может быть обусловлено утечкой протонов через мембрану МХ, следствием чего является нарушением в сопряжении окисления и фосфорилирования. Действительно, сопоставление скорости дыхания при свободном окислении и в присутствии АДФ показало, что при рассматриваемых патологиях, как при сочетании постинфарктного и диабетического повреждения миокарда, так и при монопатологиях, наблюдается разобщение процессов окисления и фосфорилирования во всех группах, начиная с ранних стадий патологического процесса (табл. 6, колонка ДК). Наблюдаемое изменение ДК сопровождалось параллельным увеличением содержания СЖК в сыворотке крови (табл. 6, колонка $[\text{СЖК}]_{\text{сыв}}$).

Увеличение скорости свободного дыхания и содержания СЖК в сыворотке крови плавно нарастает в зависимости от длительности патологии (табл. 6).

Таблица 6

Изменения скорости поглощения кислорода МХ и концентрации СЖК в сыворотке крови в динамике развития диабета и постинфарктного фиброза

Под- группы	V _{сукцинат}	ДК	+АК	+ПК	+БФБ	[СЖК] _{сыв} , мМ/л
I группа – контроль						
-	26,5±1,9	3,5 ±0,05	45,2±3,8#	48,8±2,9#	24,9 ±3,8	0,33±0,1
II группа – «инфаркт»						
И2	76,0±1,9*	1,9 ±0,08	40,8±0,5#	38,6±4,7#	32,4±4,4#	0,38±0,08
И4	78,3±6,2*	2,0 ±0,05	43,0±3,5#	42,6±1,7#	41,6±3,8*#	0,49±0,01*
И6	126±3,4*	1,9 ±0,08	73,4±2,6*#	64,0±2,4*#	67,3±4,1*	0,64±0,04*
III группа – «диабет»						
Д2	92,3±5,8	1,8 ±0,1	84,8±5,4*	88,4±6,5*	83,4±6,2*	0,46±0,02*
Д4	135±1,9*	1,9 ±0,26	140±3,8*	129±2,9*	118±6,7*#	0,51±0,13*
Д6	156±5,4	1,8±0,05	149±5,9*	153±7,2*	118±9,4*#	0,55±0,11*
IV группа – «инфаркт+диабет»						
И2Д2	65,4±1,5*	2,0 ±0,5	27,9±1,7*#	32,1±1,5*#	45,1±3,4*#	0,31±0,05
И2Д4	138±3,4*	2,0 ±0,14	75,3±2,6*#	85,7±4,3*#	70,5±6,0*#	0,47±0,11*
И2Д6	158±14,1*	2,0±0,1	98,5±4,1*#	103±6,2*#	98,7±7,8*#	0,49±0,06*
И4Д2	78,6±5,2*	2,2 ±0,04	48,9±4,4#	53,4±9,1#	53,8±3,5#	0,43±0,16*
И4Д4	91,0±3,4*	2,5 ±0,1	60,7±8,7*#	65,7±9,3*#	56,6±5,4#	0,54±0,07*
И4Д6	110±4,1*	2,0 ±0,03	101±7,9*	105±12,2*	59,3±5,7#	0,55±0,06*
И6Д2	87,3±4,4*	1,9 ±0,09	72,4±2,9*	80,3±3,4*	65,3±4,4#	0,32±0,03
И6Д4	135±9,4*	1,9 ±0,12	125±7,6*	121±6,7*	71,4±5,2#	0,33±0,08
И6Д6	167±8,2*	1,9 ±0,14	129±9,8*	132±7,8*	117,5±7,2#	0,52±0,06*
V группа – «диабет+инфаркт»						
Д2И2	79,9±1,7*	1,7 ±0,06	62,2±5,4*#	62,6±9,1*#	60,3±3,4*#	0,35±0,07
Д2И4	117±7,7*	1,7 ±0,06	68,0±8,4*#	69,3±7,1*#	67,7±6,2*#	0,47±0,07*

Примечание. Значения исследуемых показателей представлены в виде средних значений±стандартная ошибка среднего ($M \pm m$); V_{сукцинат} – дыхание МХ при окислении сукцината; ДК – дыхательный контроль; +АК, +ПК, +БФБ – дыхание МХ при добавлении в среду инкубации арахидоновой кислоты, пальмитиновой кислоты или бромфенацилбромида, соответственно;

*[СЖК]_{сыв} – концентрация СЖК в сыворотке крови крыс; * – различия в столбце статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении с соответствующим показателем в I группе; # – различия по дыханию МХ в каждой группе статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении с показателем $V_{\text{сукцинат}}$ в этой группе.*

Обращает на себя внимание тот факт, что в группах с сочетанием патологий процесс изменений в величинах изучаемых параметров замедлен в 1,5–2 раза. Другими словами, изменения, которые наблюдаются во II или III группе в 6 недель, при сочетании инфаркт+диабет (IV группа) развиваются лишь к 8–12 неделям (табл. 6).

Несоответствие высокой скорости потребления кислорода при окислении субстрата и показателей ДК может быть связано с протонофорным действием насыщенных и ненасыщенных СЖК. Хорошо изучено такое действие длинноцепочечных ЖК на дыхание изолированных МХ сердца, печени и других органов интактных животных [Schönfeld P., 1990; Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005]. Действительно, в настоящем исследовании также наблюдается увеличение скорости потребления кислорода МХ сердца интактных крыс (I группа) при добавлении в среду инкубации как пальмитиновой, так и арахидоновой кислоты (табл. 6, колонки +ПК, +АК).

Выбор именно этих ЖК обусловлен несколькими причинами. Во-первых, хорошо известно, что они являются компонентами мембранных фосфолипидов. Во-вторых, имеются многочисленные свидетельства того, что причиной аккумуляции триглицеридов в клетках и окислительного повреждения МХ является увеличение содержания в околочлеточном пространстве пальмитиновой кислоты – основного субстрата β -окисления в клетке [Терешина Е.В., 2007]. В-третьих, арахидоновая кислота, высвобождаемая из фосфолипидов при участии фосфолипазы A_2 , является предшественником в синтезе повреждающих мембрану оксипинолов, а также играет важную роль в регуляции лиганд-рецепторных взаимодействий, активности ионных каналов и регуляторных ферментов [Grynberg A., 1999].

Полученные результаты, свидетельствующие об усилении свободного дыхания МХ интактных животных в присутствии СЖК, хорошо согласуются с литературными данными. Однако, в ходе предварительных исследований по изучению влияния ЖК на дыхание МХ сердца животных экспериментальных групп, как при отдельных, так и при сочетанных патологиях, обнаружена реакция, противоположная ожидаемой: при внесении в среду инкубации СЖК происходило резкое подавление дыхания МХ, вплоть до полной остановки при увели-

чении концентрации СЖК. Именно поэтому была подобрана концентрация СЖК – 20 мкМ, оказывающая стимулирующее влияние на дыхание МХ интактных кардиомиоцитов, но при этом минимально ингибирующее – на дыхание МХ модельных животных (табл. 6).

Степень снижения скорости потребления кислорода при добавлении СЖК в используемых концентрациях не во всех экспериментальных группах выражена одинаково (табл. 6). Так, в случае монопатологий, значительное подавление дыхания МХ наблюдалось в группе «инфаркт», тогда как в группе «диабет» ингибирующее влияние СЖК было статистически не значимо. В сочетанных экспериментальных группах ингибирование дыхания МХ при добавлении СЖК было наиболее выражено на относительно ранних сроках развития сочетанной патологии (табл. 6). Таким образом, на основании полученных результатов по влиянию СЖК на дыхание МХ, нельзя однозначно утверждать, что увеличение скорости потребления кислорода при развитии рассматриваемых патологий обусловлено только протонофорным действием СЖК: возможны какие-то иные процессы с их участием. В частности, это может являться следствием накопления метаболитов ЖК и ингибирования ими мембраносвязанных и внутримитохондриальных ферментов [Ventura–Clapier R., Garnier A., Veksler V., 2003; Lopaschuk G.D., и др. 2010].

Так, например, вполне вероятно, что СЖК исполняют роль модуляторов активности эндогенных фосфолипаз и этот процесс направлен на поддержание мембранных структур КМЦ при адаптации миокарда к патологическому воздействию. Одним из источников ЖК в клетке может быть повышенная активность внутриклеточных фосфолипаз: ключевым моментом в высвобождении ЖК являются отклонения в процессе мембранного ремоделирования, приводящие к дисбалансу между деацилированием и реацилированием [Grynberg A., 1999]. Показано, что на начальной стадии ишемии процесс аккумуляции СЖК протекает медленно, причем ЖК отщепляются исключительно от мембранных фосфолипидов [Van der Vusse G.J. et al., 1997]. На более поздних стадиях ишемии возрастает концентрация лизофосфолипидов и накопление токсичных продуктов распада ЖК, что создает условия для дополнительного повышения потребности миокарда в кислороде, не связанного с увеличением его механической работы [Van der Vusse G.J. et al., 1997].

Для проверки этого предположения, в настоящем исследовании был использован метод ингибиторного анализа, с применением инги-

битора фосфолипазы A_2 , БФБ [Chang J.J., Musser H., McGregor H., 1987]. При добавлении в среду инкубации МХ интактных животных БФБ не оказывал влияния на дыхание МХ этой группы. Однако при моделировании патологий добавление БФБ приводило к подавлению дыхания МХ практически во всех группах (табл. 3.2.–1). Сравнительный анализ изменения интенсивности свободного окисления в ответ на добавлении СЖК и БФБ при рассматриваемых патологиях показывает, что в большинстве случаев снижение дыхания МХ при ингибировании фосфолипазы A_2 сопоставимо с таковым в присутствии СЖК (табл. 6).

По-видимому, данное торможение активности фосфолипазы A_2 СЖК и/или продуктами их метаболизма [Брагина Н.А. и др., 1999] осуществляется по известному механизму отрицательной обратной связи, когда избыток субстрата приводит к утрате чувствительности воспринимающих его структур. Снижение активности фосфолипазы A_2 может быть обусловлено ионофорным действием СЖК [Sharpe M.A., Cooper C.E., Wrigglesworth J.M. 1994] и накоплением внутримитохондриального кальция. При ишемии миокарда кальций по-разному влияет на фосфолипазу A_2 : раннее увеличение Ca^{2+} стимулирует ее, а высокая концентрация этого иона – ингибирует [Grynberg A., 1999]. Известно несколько возможных путей регуляции активности внутриклеточных фосфолипаз A_2 , при этом общий механизм регуляции сложен и до конца не изучен [Брагина Н.А., и др., 1999].

Выраженная реакция МХ на БФБ может быть свидетельством сохраненной лабильности митохондриальной фосфолипазы A_2 и, косвенным образом, большей устойчивости мембран МХ к повреждению на ранних стадиях развития патологического процесса, когда происходит активное включение и использование компенсаторных механизмов. В то же время, отсутствие такой реакции на поздних стадиях патологического процесса следует рассматривать как подтверждение его необратимости.

Как уже было отмечено выше, интенсивность реакции на внесение СЖК или БФБ различается в зависимости от длительности моделируемой патологии в разных экспериментальных группах и подгруппах (табл. 6). С этой точки зрения было важно провести сравнение изменений рассматриваемых показателей по дыханию МХ в группах сочетанной патологии с соответствующими показателями при отдельных патологиях, в динамике развития патологий. Полученные

результаты приведены в таблице 7, в виде отклонений в большую (+) или меньшую сторону (-) от сравниваемого показателя в группах с монопатологиями. В первую очередь обращает на себя внимание тот факт, что при сочетании патологий практически все рассмотренные показатели в большинстве случаев лучше, чем при диабете, особенно на поздних стадиях сочетанной патологии (табл. 7).

Таблица 7

Сравнение показателей дыхания митохондрий в группах с сочетанной патологией по отношению к группам с монопатологиями, в динамике их развития

Сочетание патологий	Инфаркт												Диабет											
	И2				И4				И6				Д2				Д4				Д6			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
И2Д2	-	-	0	0	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
И2Д4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	-	-	-	0	-	-	-
И2Д6	+	+	+	+	+	+	+	+	0	-	-	-	+	0	0	0	0	-	-	0	0	-	-	0
И4Д2	0	0	+	+	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
И4Д4	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
И4Д6	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
И6Д2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0	+	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
И6Д4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	-	0	-	-	-	-	-
И6Д6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0	0	0	-	-	0
Д2И2	0	+	+	+	0	+	+	+	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Д2И4	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: 1 – дыхание МХ при окислении сукцината ($V_{\text{сукцинат}}$); 2 – дыхание МХ при добавлении АК (+АК); 3 – дыхание МХ при добавлении ПК (+ПК); 4 – дыхание МХ при добавлении БФБ (+БФБ); знак «0» – не выявлено статистически значимых отличий между показателями в группе сочетанной патологии по отношению к соответствующему показателю в группе монопатологии ($p > 0,05$); знак «+» – показатель в группе сочетанной патологии статистически значимо ($p < 0,05$) выше величины соответствующего показателя в группе монопатологии; знак «-» – показатель в группе сочетанной патологии статистически значимо ($p < 0,05$) ниже величины соответствующего показателя в группе монопатологии.

Другими словами, отклонения от величин соответствующих показателей скорости поглощения кислорода МХ интактных животных менее выражены при сочетании патологий, чем в группе «диабет». Однако сравнение тех же параметров с показателями в группе «инфаркт» демонстрирует противоположную ситуацию: при сочетании патологий в большинстве случаев наблюдается увеличение скорости поглощения кислорода МХ и уменьшение тормозного влияния ЖК и БФБ на дыхание МХ (табл. 7). Однако при этом нужно учитывать тот факт, что эти изменения становятся выраженными при суммарной длительности сочетанной патологии в 6–12 недель. Таким образом, проведенный анализ показывает, что изменения в рассматриваемых параметрах более медленно нарастают в группах сочетанных патологий в сравнении монопатологиями (табл. 6, 7).

Нужно отметить, что, судя по изменению всех рассмотренных к этому моменту показателей (дыхания МХ, структурных изменений миокарда, морфометрических параметров, выживаемости при сочетанных патологиях) именно сочетание «инфаркт+диабет» увеличивает устойчивость животных к патологическим воздействиям, и это, по-видимому, является классическим примером проявления перекрестной адаптации. Более слабое проявление кросс-адаптации при сочетании «диабет+инфаркт» обусловлено, скорее всего, слишком медленным нарастанием метаболических изменений в КМЦ при развитии диабета, а мультиорганное поражение организма при этой патологии приводит к раннему нарушению адаптивных процессов при присоединении инфаркта.

Полученные данные о том, что при сочетании ишемического и диабетического повреждения миокарда наблюдается сдерживание развития нарушений на уровне энергетического метаболизма, хорошо согласуются с сохранением других показателей функциональной активности миокарда крыс, в первую очередь, инотропной функции сердца, убедительно показанным рядом исследователей на подобных экспериментальных моделях [Nawata T., Takahashi N., Opie T. 2002; Chen H., Shen W.L., Wang X.H. 2006; Дубилей Т.А. и др., 2007; Афанасьев С.А. и др., 2009].

Таким образом, на основании собственных и литературных данных, можно уверенно утверждать, что процессы адаптации при развитии ишемического и диабетического повреждения миокарда тесно связаны с регуляторным влиянием СЖК на метаболизм кардиомиоцитов. Наибольшая устойчивость по всем рассматриваемым парамет-

рам наблюдалась в подгруппе животных И4Д2-6, т. е. в условиях уже имеющегося ремоделирования. В тех случаях, когда после инфаркта прошло 6 недель (животные подгруппы – И6Д2-6) сочетание с диабетом уже не усиливало компенсаторных реакций. На ранних сроках постинфарктных изменений (И2Д2-6) компенсаторные процессы, по-видимому, не успевают развернуться в полную мощность. Соответственно, реакция миокарда обусловлена разными стадиями адаптации кардиомиоцитов к патологическому воздействию. Исходя из этого, мы предполагаем, что отличие влияния СЖК на дыхание МХ животных в группах моно- и сочетанной патологии обусловлено именно этим.

Накопление СЖК в рассматриваемых условиях, по всей видимости, сдерживает активность фосфолипазы A_2 , что препятствует критическому изменению состава мембран, подвижности мембранных структур и способствует сохранению метаболизма КМЦ при развитии ишемического повреждения миокарда. Однако нельзя быть уверенным, что процессы, наблюдаемые в изолированных МХ, являются точным отражением процессов, происходящих в целой клетке. С точки зрения представляется необходимым сравнить влияние модуляторов фосфолипазы A_2 на скорость поглощения кислорода КМЦ нормального и патологического миокарда, в присутствии и отсутствии в среде инкубации ЖК.

Влияние жирных кислот на поглощение кислорода изолированными кардиомиоцитами

Результаты, отражающие базовые показатели дыхания КМЦ в I и II группах, представлены на рисунке 9. Видно, что исходная скорость потребления кислорода КМЦ при постинфарктном кардиосклерозе более чем в 4 раза превышает таковую в КМЦ интактных крыс. Такой результат вполне согласуется с существующими представлениями о метаболических последствиях ишемии миокарда, когда избыток СЖК и ингибирование окисления глюкозы обуславливает увеличенную потребность миокарда в кислороде, что сопровождается нарастающим энергодефицитом [Lopashuk G.D. et al., 2010]. Важно отметить, что при постинфарктном кардиосклерозе такая реакция является генерализованной, и существенное снижение энергетических ресурсов показано даже в неповрежденных участках сердечной мышцы [Neubauer S. et al., 1995]. Общий дефицит энергии в клетках миокарда

может приводить к активации эндогенных фосфолипаз, способных высвобожать ЖК из мембранных структур клетки, в первую очередь, АК [Weglicki W.B. et al., 1973]. Действительно, скорость потребления кислорода у КМЦ, выделенных из сердца крыс с постинфарктным кардиосклерозом, оказалась сопоставима с таковой, полученной для КМЦ интактных крыс при стимуляции их дыхания АК (рис. 9). Однако аналогичное добавление АК в среду инкубации не приводило к снижению скорости поглощения кислорода КМЦ при постинфарктном кардиосклерозе (рис. 9). Этот результат можно объяснить тем, что в постинфарктных КМЦ усиление скорости потребления кислорода уже реализуется через механизм, связанный с действием АК, вследствие увеличения АК в плазме крови и/или в КМЦ. При этом увеличение скорости потребления кислорода интактными КМЦ в присутствии АК может быть обусловлена стимуляцией фосфолипазы A_2 , что, в свою очередь, приводит к высвобождению АК из мембранных фосфолипидов и вызывает дисбаланс в процессах мембранного ремоделирования в сторону накопления лизофосфолипидов.

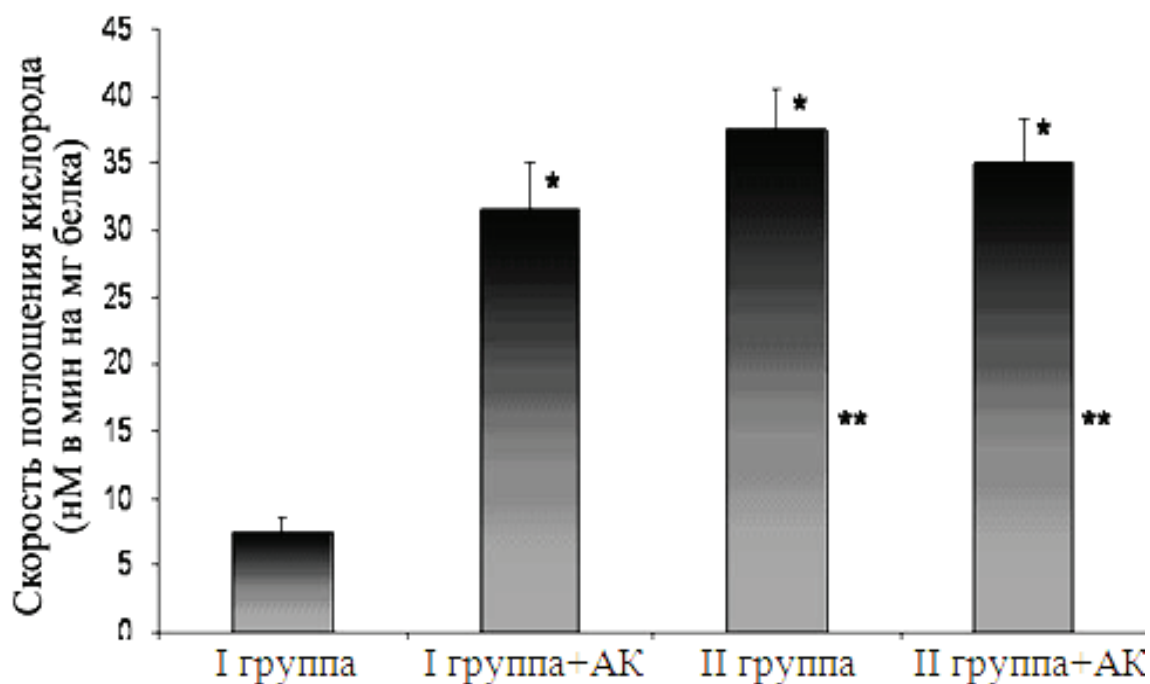


Рис. 9. Влияние арахидоновой кислоты на скорость поглощения кислорода кардиомиоцитами крыс в контроле и при постинфарктном фиброзе

Примечание. I группа – скорость поглощения кислорода КМЦ интактных крыс; II группа – скорость поглощения кислорода КМЦ группы «инфаркт», подгруппа Иб; АК – арахидоновая кислота; * – различия статистически значимы по отношению к I группе ($p < 0,05$).

Для проверки данного предположения о взаимосвязи между усилением дыхания при добавлении АК и активацией фосфолипазы A_2 было проведено сравнительное исследование скорости поглощения кислорода изолированными КМЦ с использованием активатора фосфолипазы A_2 , мелиттина [Shier W.T., 1979], и ее ингибитора, БФБ.

При добавлении в среду инкубации, мелиттин, более чем в 4 раза, увеличивал скорость поглощения кислорода КМЦ интактных животных, доводя значения этого показателя до уровня, равного таковому в КМЦ постинфарктных животных (рис. 10).

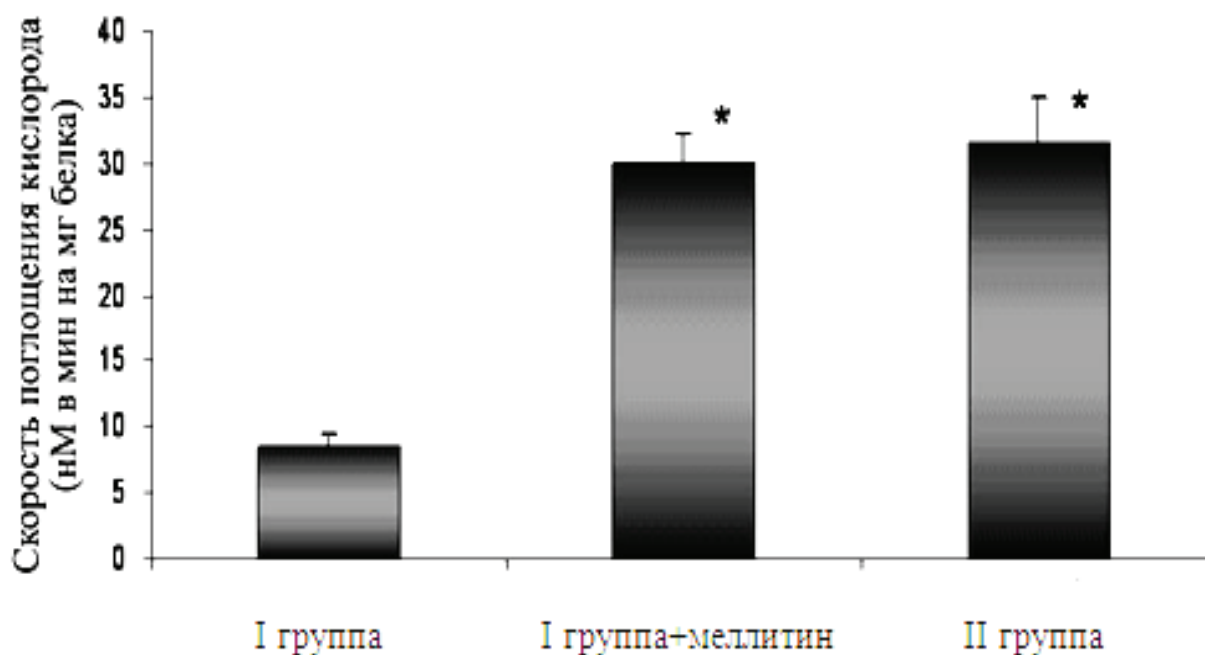


Рис. 10. Сопоставление стимулированного мелиттином дыхания кардиомиоцитов интактных животных с дыханием кардиомиоцитов при постинфарктном фиброзе миокарда

Примечание. I группа – скорость поглощения кислорода КМЦ интактных крыс; II группа – скорость поглощения кислорода КМЦ группы «инфаркт», подгруппа Иб; * – различия статистически значимы по отношению к I группе ($p < 0,05$).

При сопоставлении результатов по действию АК и мелиттином, обнаружено, что оба вещества оказывают сходные стимулирующие эффекты на дыхание КМЦ интактных животных (рис. 9-11). Еще более убедительно справедливость предположения об участии фосфолипазы A_2 подтверждают эксперименты с применением БФБ. Стимулированное АК или мелиттином дыхание интактных КМЦ при добавлении БФБ снижалось практически до исходного уровня. При этом БФБ сам по себе не оказывал значительного влияния на скорость по-

глощения кислорода интактными КМЦ. При добавлении БФБ к КМЦ животных с постинфарктным кардиосклерозом скорость поглощения кислорода снижалась до уровня интактных клеток (рис. 9-11). Стоит отметить, что выраженность снижения скорости поглощения кислорода при использовании БФБ во всех рассматриваемых случаях были практически одинакова.

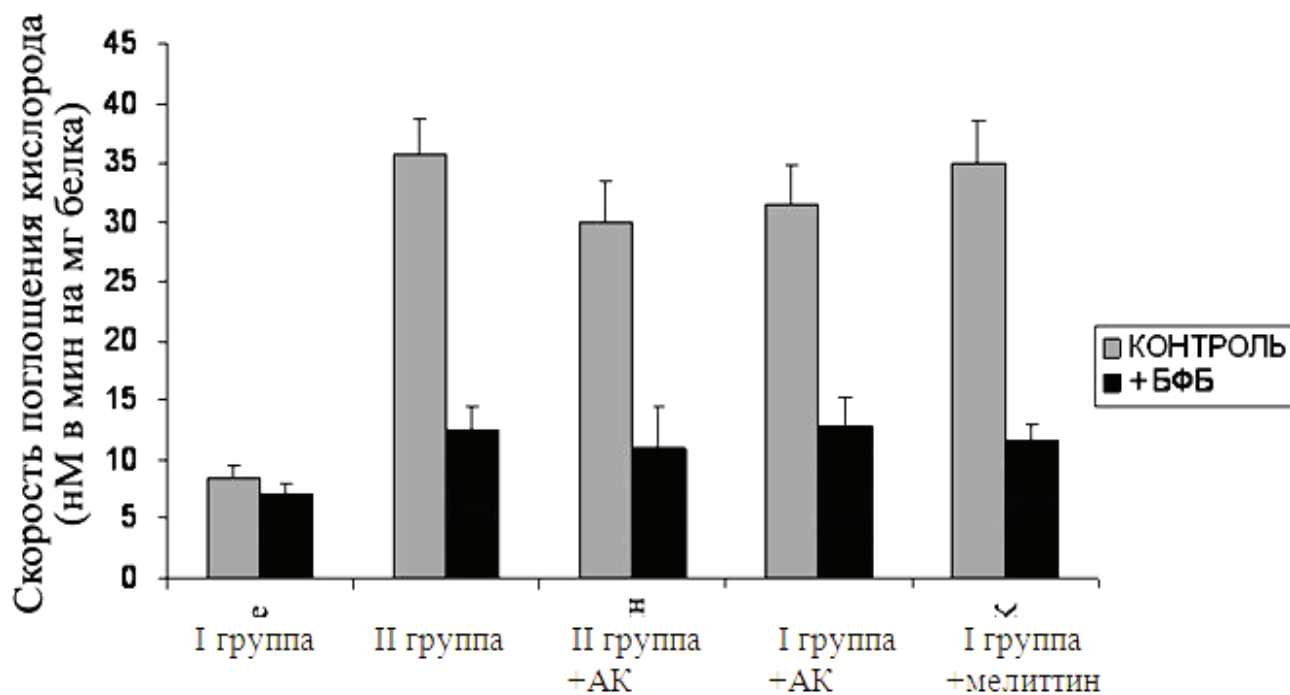


Рис. 11. Сводная гистограмма сопоставления влияния БФБ на исходное и стимулированное дыхание кардиомиоцитов

Примечание. I группа – кардиомиоциты интактных крыс; II группа – кардиомиоциты группы «инфаркт», подгруппа Иб; АК – арахидоновая кислота; БФБ – бромфенацилбромид.

Таким образом, полученные нами данные по дыханию изолированных КМЦ свидетельствуют, что при экспериментальном постинфарктном кардиосклерозе для КМЦ характерно значительное увеличение потребности в кислороде, не связанное с их инотропной активностью, и обусловленное влиянием ЖК через модуляцию активности фосфолипазы A_2 . В связи с этим, представляется интересным сравнить влияние ЖК, БФБ и мелиттина на скорость потребления кислорода КМЦ при диабетическом поражении миокарда, а так же при сочетании патологий.

Для этого исследования были отобраны подгруппы на стадии хронической патологии, то есть длительностью не менее 6 недель. Соответственно, это подгруппы Иб и Дб из групп «инфаркт» и «диабет» и подгруппа Д2И4 группы «диабет+инфаркт». При выборе из

многочисленных подгрупп группы «инфаркт+диабет» руководством стали результаты по дыханию МХ в этой группе: при рассмотрении данных в совокупности обращает на себя внимание подгруппа И4Д2-И4Д6 (табл. 6). В этой подгруппе, при суммарной длительности патологии от 6 до 10 недель, наблюдаются самые низкие поглощения кислорода при свободном окислении, относительно повышенный ДК, стабильно выраженная реакция на ЖК и БФБ, при сравнении этих же показателей в других подгруппах на тех же сроках. Таким образом, для исследования дыхания КМЦ в группе «инфаркт+диабет» были выбраны: И4Д4 – как «наилучшая», и И4Д6 – как «наихудшая», из наиболее устойчивой подгруппы И4Д2–И4Д6, судя по показаниям изменения скорости поглощения кислорода МХ.

Результаты проведенного исследования по дыханию КМЦ в указанных группах представлены в таблице 7. Аналогично с реакцией МХ на добавление ЖК и БФБ в среду инкубации, наблюдалось снижение скорости поглощения кислорода КМЦ в группах «инфаркт» и «диабет» при введении в среду инкубации АК, ПК и БФБ на фоне исходно высокого потребления кислорода. При этом мелиттин не оказывал стимулирующего действия на дыхание КМЦ (табл. 6). Эти данные подтверждают высказанное выше предположение о взаимосвязи процессов дыхания, повышения и модуляции ЖК активности фосфолипазы A_2 в КМЦ при рассматриваемых патологиях. Однако в случае сочетанных патологий, результаты оказались не столь однозначными. Во-первых, обнаружено резкое отличие по влиянию ПК и АК на дыхание КМЦ при сочетании «диабет+инфаркт»: добавление АК приводило к увеличению скорости поглощения кислорода КМЦ, тогда как добавление ПК не оказывало ни тормозного, ни стимулирующего действия (табл. 7). При этом добавление мелиттина в среду инкубации КМЦ оказывало значительное стимулирующее действие, а БФБ не изменял дыхания КМЦ.

Эти данные по дыханию КМЦ в группе «диабет+инфаркт» не позволяют однозначно утверждать, что при таком сочетании патологий увеличение потребления кислорода КМЦ обусловлено именно ЖК и модуляцией активности фосфолипазы A_2 . Во-вторых, в группе «инфаркт+диабет» также обнаружена разная реакция на ЖК и модуляторы фосфолипазы A_2 в двух исследуемых подгруппах: в подгруппе И4Д4 обе ЖК и БФБ оказывали ингибирующее влияние на скорость потребления кислорода КМЦ, при этом мелиттин не стимулировал дыхание клеток. В подгруппе И4Д6, напротив, ЖК не влияли

на скорость потребления кислорода кардиомиоцитами, тогда как мелиттин оказывал небольшое стимулирующее, а БФБ – ингибирующее действие на дыхание КМЦ.

Таблица 7

Влияние жирных кислот и модуляторов активности фосфолипазы A_2 на скорость поглощения кислорода изолированными кардиомиоцитами

Подгруппы	СПК _{исх}	+АК	+ПК	мелиттин	+БФБ
I группа – контроль					
-	55,4±3,0	78,5 ±2,1#	71,1±1,9#	75,5±0,6#	49,9 ±4,0
II группа – «инфаркт»					
И6	122,3±8,5*	81,3 ±6,5#	86,5±5,8#	110,9±9,3	42,8±4,4#
III группа – «диабет»					
Д6	144,3±12,4*	77,8±4,0#	83,8±9,2#	157±10,8	50,3±3,7#
IV группа – «инфаркт+диабет»					
И4Д4	178,8±19,4*	50,2 ±3,5*#	63,5±1,8#	153,8±5,7	45,0±2,3#
И4Д6	189,3±4,2 *	186,6±8,8*	185,1±18,8*	212,6±54,4#	126,3±13,0#
V группа – «диабет+инфаркт»					
Д2И4	145,8±10,8*	245,5±14,7*	146,3±11,4	214,0±27,7#	136,5±14,7

Примечание. Результаты представлены как $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – среднеквадратичное отклонение; СПК_{исх} – скорость поглощения кислорода КМЦ в среде инкубации без добавок; +АК, +ПК, +БФБ, +мелиттин – дыхание КМЦ при добавлении в среду инкубации арахидоновой кислоты, пальмитиновой кислоты, бромфенацилбромиды или мелиттина, соответственно; * – различия в столбце статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении с соответствующим показателем в I группе; # – различия по дыханию КМЦ в каждой группе статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении с показателем СПК_{исх} в этой группе.

Разнообразие ответных реакций на разные ЖК, стимуляцию или ингибирование фосфолипазы A_2 при отдельных и сочетанных патологиях и в динамике их развития свидетельствуют о том, что изменение активности эндогенных фосфолипаз – не единственная мишень неэтерифицированных ЖК как модуляторов метаболизма кардиомиоцитов. Однако схожие изменения в скорости потребления кислорода МХ и КМЦ, а также, в большинстве случаев, на добавление ЖК, направляют на поиск других механизмов регуляции метаболизма кардиомиоцитов с участием ЖК на митохондриальном уровне.

Механизмы разобщающего действия жирных кислот как адаптивная защита сердца

Хорошо известно, что основным энергетическим субстратом в здоровом сердце при достаточном обеспечении кислородом являются ЖК; при недостаточном кровоснабжении или диабете функциональные расстройства в миокарде связаны с накоплением токсичных промежуточных продуктов окисления липидов в сердце [Brindley D.N. et al., 2010; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. ЖК и АФК стимулируют неспецифическую проницаемость митохондриальных мембран, что, в свою очередь, приводит к разобщению окислительного фосфорилирования [Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Однако, в экстремальных природных условиях (гипоксия, гипо- и гипертермия и др.) повышенная проницаемость внутренней мембраны МХ и супрессия системы окислительного фосфорилирования являются временными и носят защитно-приспособительный характер [Brand M.D. et al., 2002]. Вполне вероятно, что эти механизмы используются для сохранения параметров клетки и ее выживания и при адаптации к патологическим факторам. Многочисленные работы свидетельствуют о физиологической роли повышения протонной проницаемости внутренней мембраны МХ, как защиты от накопления и повреждающего действия АФК, образующихся в МХ [Skulachev V.P., 1997; Korshunov S.S. et al. 1998; Murphy M.P. et al. 2003; Кожина О.В., Каратецкова М.П., Самарцев В.Н., 2006; Самарцев В.Н., Кожина О.В., 2008; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009; Lopaschuk G.D. et al., 2010].

Накопление ТГ в миокарде и изменение интенсивности окисления ЖК, в современной литературе рассматриваются с позиции защиты миокарда от накопления вредных продуктов обмена и поддержания энергетического метаболизма в кардиомиоцитах при сердечной недостаточности и сахарном диабете [Brindley D.N. et al., 2010; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. С этой точки зрения представляется важной задачей оценить вклад различных механизмов разобщения окисления и фосфорилирования с участием СЖК в МХ сердца при развитии ишемического и диабетического повреждения миокарда, с позиции их защитного действия.

СЖК могут оказывать протонофорное действие при участии белков-переносчиков внутренней мембраны МХ: АДФ/АТФ- и аспартат/глутаматного антипортеров. В этом случае ингибитор АДФ/АТФ-

антипортера, карбоксиатрактиллат (кАтр), и субстраты переносчиков – АДФ, аспартат и глутамат – способны подавлять разобщающее действие ЖК [Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005; Самарцев В.Н., Кожина О.В., 2008; Самарцев В.Н., Кожина О.В., 2008]. В нашем исследовании АДФ, в присутствии олигомицина (ингибитора протонного анала АТФазы [Joshi S., Huang Y.G., 1991]), и кАтр снижали скорость потребления кислорода МХ во всех экспериментальных группах (табл. 8).

Таблица 8

Влияние различных супрессоров дыхания на скорость поглощения кислорода митохондриями сердца экспериментальных крыс

Подгруппы	V _{сукцинат}	+ кАтр	+ оли- го+АДФ	+ циклоА	+ ЭГТА+А23187
I группа – контроль					
-	26,5±1,9	28,8±4,5	26,3±2,5	24,0±2,0	25,9±4,2
II группа «инфаркт»					
И2	76,0±1,9*	31,4±1,9#	44,2±4,2#	34,1±1,7#	24,3±2,2#
И4	78,3±6,2*	52,5±2,9#	56,3±2,5#	39,0±2,0#	31,4±3,9#
И6	126±3,4*	75,9 ±3,5#	72,5±6,3#	91,4±4,1#	56,5±4,9#
III группа «диабет»					
Д2	92,3±5,8*	89,8±3,9	33,3±3,2#	63,5±5,3#	29,0±4,2#
Д4	135±3,9*	129 ±6,2	71,6±3,5#	103±9,8#	97,9±9,9#
Д6	156±5,4*	129±8,3	91,1±2,7#	106±9,1#	99,2±6,7#
IV группа «инфаркт+диабет»					
И2Д2	65,4±2,5*	31,6±3,3 #	36,6±2,6#	35,6±1,6#	26,1±2,5#
И2Д4	138±3,4*	83,6±3,9#	80,3±5,7#	99,2±6,4#	45,4±4,4#
И2Д6	158±14,1*	135±11,9	122±9,8#	116±12,0#	61,8±4,8#
И4Д2	78,6±5,2*	69,8 ±4,4	54,1±3,7#	68,8 ±5,2	49,9±4,9#
И4Д4	91,0±3,4*	89,2 ±3,7	58,9±2,1#	86,3±3,9	55,8±3,4#
И4Д6	110±4,1*	86,9±9,9	99,8±5,4	114 ±2,8	64,1±2,5#
И6Д2	87,3±4,4*	62,1±5,2#	54,4±3,2#	61,2±4,6#	32,1±5,7 #
И6Д4	135±9,4*	79,4±4,3#	62,4±3,2#	87,1±3,8#	46,1±4,3#
И6Д6	167±8,2*	143±7,2	129±6,2#	123±6,4#	65,6±4,8#
V группа «диабет+инфаркт»					
Д2И2	79,9±1,7*	56,9±6,2#	56,2±5,2#	73,2±3,6	50,6±7,9#
Д2И4	117±7,7*	72,1±7,5#	97,5±6,8	93,6±4,7	69,1±6,6#

Примечание: значения исследуемых показателей представлены в виде средних значений±стандартная ошибка среднего ($M \pm m$); V_{сукцинат} – дыхание МХ при

окислении сукцината; + кАтр, + олиго+АДФ, + циклоА, + ЭГТА+А23187 – дыхание МХ при введении в среду инкубации соответствующих добавок; * – различия в колонке $V_{\text{сукцинат}}$ статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении с этим показателем в I группе; # – различия по дыханию МХ в каждой экспериментальной группе статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении с показателем $V_{\text{сукцинат}}$ в этой же группе.

Однако нужно отметить, что в некоторых подгруппах, на отдаленных сроках развития сочетанной патологии, реакция на кАтр и/или АДФ, слабо выражена или отсутствует (табл. 8), И2Д6, И4Д6, И6Д6, Д2И4). Полученные результаты можно объяснить, основываясь на известной гипотезе о том, что АДФ/АТФ- и аспартат/глутаматный антипортеры могут функционировать совместно как разобщающий комплекс с общим пулом СЖК [Самарцев В.Н., Кожина О.В., Полищук Л.С., 2006; Кожина О.В. 2008]. Возможно, что и в наших условиях СЖК под влиянием кАтр перемещаются к аспартат/глутаматному антипортеру, благодаря чему компенсируется выключение из разобщения АДФ/АТФ-антипортера. В пользу этого предположения свидетельствуют данные, что в присутствии глутамата снижается разобщающее действие СЖК [Кожина О.В., Каратецкова М.П., Самарцев В.Н.. 2006], и при постинфарктном кардиосклерозе наблюдается уменьшение степени разобщения окисления и фосфорилирования в МХ сердца [Егорова М.В., Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., 2010].

При обсуждении в литературе физиологического значения процессов разобщения в МХ было высказано предположение, что протонфорная разобщающая активность СЖК зависит от интенсивности формирования АФК, и это разобщение направлено на снижение образования АФК [Korshunov S.S. et al., 1998; Мохова Е.Н., Хайлова Л.С., 2005; Кожина О.В., 2007; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009]. В присутствии антиоксидантов разобщающая активность пальмитата приблизительно на 80% подавляется АДФ и аспартатом, а в отсутствие антиоксидантов накопление АФК приводит к изменению свойств АДФ/АТФ-антипортера [Самарцев В.Н., Кожина О.В., Полищук Л.С., 2006; Кожина О.В. 2007]. Соответственно, сохраненная реакция на АДФ свидетельствует об активности антиоксидантных систем в МХ [Самарцев В.Н., Кожина О.В., Полищук Л.С., 2006; Кожина О.В. 2007; Самарцев В.Н., Кожина О.В., 2008]. Таким образом, наблюдаемое нами уменьшение реакции на АДФ по мере развития рассматриваемых патологий (табл. 8) может быть следствием истощения воз-

возможностей антиоксидантных систем в кардиомиоцитах. Известно, что при хронической ишемии в кардиомиоцитах нарушается баланс между перекисным окислением липидов и эндогенными жирорастворимыми антиоксидантами [Лебедев А.В., Афанасьев С.А., Алексеева Е.Д., 1995].

В рамках гипотезы о защитной функции разобщения предполагается, что если системы утечки протонов с участием СЖК по рассмотренному выше механизму с участием АДФ/АТФ- и аспартат/глутамат- антипортеров оказывается недостаточно, включается более радикальный путь, ведущий к той же цели [Skulachev V.P., 1997]. Подобную роль могут играть МРТР, поры внутренней мембраны митохондрий, образующиеся в определенных специфических условиях [Novgorodov S.A., Gudzenko T.I., 1996; Skulachev V.P., 1997; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009]. В нашем исследовании ингибирование МРТР циклоспорином А (циклоА) приводило к подавлению дыхания при рассматриваемых патологиях в отдельности (II и III группы) (табл. 8). При сочетании патологий ингибирующее действие циклоА проявлялось не во всех группах, а именно, отсутствовала в подгруппах И4Д2-Д6 (IV группа) и Д2И2-4 (V группа). Нужно отметить, что подгруппе И4Д2-6 отсутствовала реакция не только на циклоА, но и на кАтр, при этом нарастание $V_{\text{сукцинат}}$ было наиболее медленным в сравнении с остальными экспериментальными группами (табл. 8). Возможно, это объясняется некоторой стабилизацией показателей на этих сроке сочетанной патологии. С другой стороны, отсутствие реакции на используемые нами ингибиторы может быть объяснено включением в данных группах других механизмов разобщения. Так, например, СЖК способны формировать циклоА-нечувствительные поры [Белослудцев К.Н., Белослудцева Н.В., Миронова Г.Д., 2005, 2008]. Разобщающее действие СЖК может осуществляться с участием UCP-белков [Skulachev V.P., 1997; Murphy M.P. et al. 2003; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Подавление дыхания при рассматриваемых нами патологиях, как показано нами выше, может быть обусловлено ингибированием митохондриальной фосфолипазы A_2 . Не исключено, что разнообразие ответных реакций на супрессоры дыхания в разных подгруппах обусловлено одновременным включением разных механизмов разобщения с участием СЖК, подобно тому, как это происходит в МХ при стабилизации параметров метаболизма в процессе выхода животных из гипометаболического состояния [Amerkhanov Z.G. et al., 1996].

Важно отметить, что все перечисленные выше механизмы разобщения являются кальций-чувствительными [Duchen M.R., Verkhratsky A., Muallem S., 2008]. Нарастание патологических изменений в метаболизме КМЦ большинство исследователей так или иначе связывает с нарушением внутриклеточного обмена Ca^{2+} [Duchen M.R., Verkhratsky A., Muallem S., 2008]. Сочетание ЭГТА+A23187 способствует уменьшению пула ионов кальция в МХ: Ca^{2+} -ионофор A23187 [Chapman C.J., Puri A.K., Taylor R.W., Pfeiffer D.R., 1990] способствует выходу кальция из МХ во внешнюю среду, где ЭГТА связывает Ca^{2+} , препятствуя его действию. Как видно из таблицы 8, в этих условиях наблюдается выраженное подавление свободного дыхания при всех патологиях и их сочетании. При этом на дыхание МХ в контрольной группе ЭГТА и A23187 в используемых концентрациях не оказывали значительного влияния. На ранних стадиях развития патологий ЭГТА+A23187 снижает дыхание практически до уровня в МХ контрольной группы животных (табл. 8, подгруппы И2, Д2, И2Д2). Стоит обратить внимание на тот факт, что выраженность ингибирующего влияния ЭГТА+A23187 на дыхание МХ во всех экспериментальных более значима, нежели действие других рассмотренных выше супрессоров дыхания, и сохраняется при отсутствии реакции на них (табл. 8, Д2-6, И4Д2-6). Другими словами, во всех случаях сохраняется чувствительность к Ca^{2+} , что в свою очередь, является свидетельством обратимости процесса разобщения в МХ, в том числе и с участием МРТР. При физиологических условиях МРТР функционирует в низкопроводящем состоянии, пропускает протоны, ионы калия и кальция, открывается кратковременно и закрывается при изменении рН матрикса МХ [Novgorodov S.A., Gudz T.I., 1996]. Избыточное накопление кальция и насыщение Ca^{2+} -сенсоров поры приводит к открытию поры в высокопроводящем состоянии, когда в матрикс начинают проникать растворенные вещества массой до 1,5 кДа, происходит выравнивание всех градиентов, набухание МХ, разворачивание крист, разрыв внешней мембраны и высвобождение факторов, запускающих гибель клетки по типу апоптоза или некроза [Novgorodov S.A., Gudz T.I., 1996; Murphy M.P. et al. 2003; Halestrap A.P., Pasdois P., 2009].

Таким образом, по совокупности полученных нами и литературных данных, можно предположить, что разобщение в МХ сердца при рассматриваемых патологиях выполняет защитную функцию и направлено на предотвращение накопления АФК. Полученные ре-

зультаты позволяют уверенно утверждать, что это разобщение носит неспецифический характер и реализуется с одновременным включением как минимум двух механизмов: с участием АДФ/АТФ-антипортера и циклоспорин-чувствительной поры, МРТР. На ранних стадиях развития сочетанной патологии, как в случае инфаркт+диабет, так и диабет+инфаркт, преимущественно реализуется механизм с участием АТФ/АДФ- и, возможно, аспартат/глутаматного антипортеров, с постепенным включением и преобладанием на поздних стадиях механизма с участием МРТР.

Оценка эффективности аэробного и анаэробного процессов энергообразования по активности ферментов в кардиомиоцитах

Нерывная работа сердца требует больших энергетических затрат: в норме энергетические запросы сердца удовлетворяются окислением, в основном, жирных кислот, и, частично глюкозы. При кислородном же дефиците предпочтительнее окисление глюкозы, как более «кислород-эффективного» процесса, что и наблюдается при формировании сердечной недостаточности вследствие постинфарктного ремоделирования миокарда [Lopashuk G.D., 2010]. Однако при диабете, в первую очередь, в связи с нарушением инсулин-чувствительного транспорта глюкозы, основным субстратом являются ЖК. К тому же, массивное проникновение ЖК в МХ приводит к избыточному накоплению в них ацетил-КоА, что влечёт за собой угнетения активности пируватдегидрогеназного комплекса [Александров А.А., 2003; Lopashuk G.D., 2010]. Кроме того, включение ацетил-КоА в цикл лимонной кислоты приводит к сопутствующему накоплению цитрата и ингибированию фосфофруктокиназы, что, в конечном счете, приводит к снижению количества пирувата, и основным энергетическим источником в этих условиях становятся ЖК.

Подавление гликолиза серьезно снижает резервные возможности миокарда, так как энергетическая эффективность этого процесса значительно меньше, чем эффективность окислительного фосфорилирования. Однако для целого ряда процессов, которые прямо или косвенно регулируют уровень Ca^{2+} в цитоплазме, предпочтительным источником АТФ является гликолиз. Накопление Ca^{2+} вызывает опасные последствия, в частности, избыток Ca^{2+} в МХ приводит к нарушению нормального функционирования МХ.

На начальном этапе изменения дыхательной цепи митохондрий сопровождаются (после кратковременного усиления) резким снижением активности НАДН-зависимого пути окисления [Лукьянова Л.Д., 2000, 2001], что приводит к активизации компенсаторных альтернативных метаболических потоков, в частности, сукцинатоксидазного пути окисления. Феномен быстрого окисления янтарной кислоты сукцинатдегидрогеназой с быстрым ресинтезом АТФ, получил название «монополизации дыхательной цепи» [Кондрашова М.Н., 1991]. В механизме декомпенсации сердечной патологии важнейшую роль играет снижение активности быстрого метаболического кластера МХ. В большинстве случаев за этим стоит ингибирование активного центра сукцинатдегидрогеназы.

Существует гипотеза, подтвержденная экспериментальными данными [Розенфельд А.С., Маевский Е.И., 2004], что при адаптации к возрастающим нагрузкам происходит перестройка митохондриальной системы энергообеспечения в сердце [Ким Н.П., 1987], при которой наработка радикалов O_2 , которая на 70% происходит в митохондриях, минимальна, а энергетический выход в виде ресинтеза АТФ – максимален. Такая ситуация возможна, если при фосфорилирующем дыхании митохондрий используется флавинозависимый субстрат сукцинат [Кондрашова М.Н., 1991; Schild L. et al., 1997; Медведев Ю.В., Толстой А.Д., 2000]. Более того, именно сукцинат способен активно окисляться в тканях при недостатке O_2 , при этом совместно с пируватом они являются хорошими антиоксидантами [Di Lisa F. al., 1998; Fontaine E. et al., 1998].

Как уже было показано, при обоих моделируемых состояниях наблюдается увеличение уровня СЖК в сыворотке крови, повышение скорости потребления кислорода и разобщение окислительного фосфорилирования в МХ сердца экспериментальных животных. Все эти показатели, как правило, на хронической стадии значительно отличались от контрольных, на сроке от 6 недель моделируемой патологии. Поэтому представляется интересным исследование энергетического обмена в кардиомиоцитах в условиях, когда резервные возможности быстрой адаптации, по-видимому, уже исчерпаны. В связи с вышесказанным, представляется важным определение энергетического субстрата и оценка эффективности двух основных энергопоставляющих процессов при развитии моделируемых патологий.

Многочисленными исследователями предполагается, что основным звеном патогенеза, на уровне энергообразования, при исследуе-

мых патологиях является массивный вход СЖК в КМЦ, с соответствующими печальными последствиями для клетки [Brindley D.N. et al., 2010; Lopaschuk G.D. et al., 2010]. Проведенное в настоящей работе исследование не показало статистически значимых различий по уровню СЖК в сыворотке крови между группами отдельных (И6, Д6) и сочетанной (И4Д2) патологий, хотя в сравнении с контрольной сывороткой этот показатель был выше (табл. 9). Это результат хорошо согласуется с литературными данными. Однако, в наших экспериментальных условиях, при исследовании содержания СЖК в гомогенате миокарда контрольных и экспериментальных групп не было обнаружено различий между содержанием СЖК в КМЦ интактных и патологических животных (табл. 9). Другими словами, этот результат свидетельствует о том, что контролирующий механизм поступления СЖК в клетку продолжает успешно функционировать и при хронических патологиях. С этой точки зрения, гораздо важнее дальнейшая судьба СЖК в клетке.

Интересный результат показало исследование содержания СЖК непосредственно в суспензии МХ: наблюдалось выраженное отличие по содержанию ЖК в МХ во всех группах. Наиболее высокое содержание ЖК получено в группе «диабет»: уровень ЖК более чем в 5 раз превышал контрольную величину. Трехкратное увеличение содержания ЖК в МХ наблюдалось и в группе «инфаркт» (табл. 9). Однако, при сочетании патологий этот показатель был наиболее близким к контрольному). Возможно, это обусловлено разными механизмами утилизации ЖК в КМЦ при разных патологических состояниях.

Таблица 9

Концентрация жирных кислот и активность внутриклеточных ферментов энергетического обмена в кардиомиоцитах животных

Группа	СЖК (нМ/мг белка)		Активность ферментов (усл. ед. опт. плотн.)		
	гомогенат	МХ	ЛДГ	СДГ	ЩФ
Контроль	1,02±0,14	0,83±0,12	0,73±0,04	0,51±0,02	0,46□0,01*
Инфаркт (И6)	1,19±0,14	2,86±1,15*#	0,41±0,01*	0,32±0,01*#	0,24□0,02*#
Диабет (Д6)	1,51±0,17	5,83±1,31*^	0,37±0,03*	0,20±0,02*^	0,50□0,02^
Инфаркт+ Диабет (И4Д2)	1,35±0,15	1,88±0,78*#^	0,62±0,03#^	0,78±0,05*#^	0,47□0,03

Примечание. Значения исследуемых показателей представлены в виде средних значений±стандартная ошибка среднего ($M \pm m$); * – $p < 0,01$ по отношению к

контролю; # – то же по сравнению с диабетом; ^ – $p < 0,01$ по сравнению с инфарктом.

С этой точки зрения, интересны данные корреляционного анализа связи показателей $[ЖК]_{МХ}$ с показателями ДК и скорости поглощения кислорода при внесении в инкубационную среду ЖК (табл. 10).

Таблица 10

Ранговые корреляции Спирмена ($p < 0,05$)

Группы крыс	$[ЖК]_{МХ}$ & ДК, r	$[ЖК]_{МХ}$ & АК, r	$[ЖК]_{МХ}$ & ПК, r
инфаркт (И6)	-0,55	-0,40	-0,38
диабет (Д6)	-0,03	-0,38	-0,42
инфаркт+диабет (И4Д2)	0,33	0,63	0,70

Примечание. $[ЖК]_{МХ}$ – концентрация ЖК в суспензии МХ; ДК – дыхательный контроль; АК и ПК – скорость поглощения кислорода митохондриями крыс при внесении в инкубационную среду арахидоновой и пальмитиновой кислот, соответственно.

У крыс в группе «инфаркт» выявлена отрицательная связь средней силы между концентрацией ЖК в МХ и всеми тремя исследуемыми параметрами. Эти данные согласуются с гипотезой об угнетении ЖК дыхания МХ из-за их накопления в органеллах. У животных в группе «диабет» ДК не связан с концентрацией ЖК в МХ. В группах с сочетанной патологией все наблюдаемые связи являются положительными. Повышение концентрации ЖК в МХ группы «инфаркт+диабет» вносит значимый вклад в повышение ДК, что может свидетельствовать о восстановлении способности к окислению ЖК при сочетанной патологии. Об этом же свидетельствует и положительная корреляционная связь в этой группе между увеличением концентрации ЖК в МХ и окислительной способностью МХ в ответ на внесение ЖК в среду инкубации (табл. 10).

Окисление ЖК является кислородзатратным процессом, что повышает значимость анаэробного пути энергообразования. По результатам гистоэнзимологического исследования активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) КМЦ при монопатологиях достоверно ниже, чем у контрольных животных (табл. 9), что может свидетельствовать о снижении процесса анаэробного энергообразования. При сочетании патологий активность ЛДГ не имела статистически значимых различий с данным параметром в контрольной группе, что предполагает нормальное протекание процессов гликолиза в данной группе.

При анализе результатов по активности сукцинадегидрогеназы (СДГ) обнаружено снижение этого показателя в 1,5 раза в группе «инфаркт», тогда как в группе «диабет» наблюдалось снижение активности этого фермента в 2,6 раза, в сравнении с группой «контроль» (табл. 9). Однако в группе сочетанной патологии «инфаркт+диабет», напротив, активность СДГ в 2,5–3,5 раза выше не только в сравнении с монопатологиями, но и статистически значимо превышает этот показатель в контрольной группе.

Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что в миокарде при развитии патологических состояний в отдельности снижается эффективность как аэробного, так и анаэробного пути энергообразования. Однако при формировании сочетанных патологий уровень анаэробных процессов сохраняется, а активность аэробного пути образования АТФ даже повышается. С одной стороны, полученные данные могут быть обусловлены компенсаторно-адаптационной перестройкой процессов энергопродукции в МХ сердца, с переключением на сукцинатоксидазный путь окисления. С другой стороны, усиление аэробных процессов может быть так же связано с активацией ангиогенеза в рассматриваемых условиях, и, соответственно, с увеличением кровоснабжения миокарда и улучшением транспортной функции сосудов микроциркуляторного русла.

Для оценки состояния капиллярного звена микроциркуляторного русла часто используют такие показатели, как плотность распределения капилляров и, в качестве маркера транспортной функции эндотелия, активность щелочной фосфатазы (ЩФ) [Дзюман А.Н., 2002; Грибань П.А., Мартыненко Е.Е., Лемешко Т.Н., 2010; Квитницкая–Рыжова Т.Ю. и др., 2011]. Активность ЩФ связана с транскapиллярным обменом веществ, транспортом ионов и преобразованием энергии и может отражать интенсивность обменных процессов в патологическом миокарде [Квитницкая–Рыжова Т.Ю. и др., 2011]. Действительно, как уже показано в таблице 5, при развитии патологий наблюдается увеличение плотности капилляров в расчете на 1 см² миокарда. Количество капилляров в миокарде левого желудочка во всех группах (на рассматриваемом сроке патологий длительностью 6 недель) в два и более раза превышало этот показатель в контрольной группе (табл. 9). Однако исследование активности ЩФ показало различие в состоятельности транспортной функции эндотелия капилляров в разных группах (табл. 9). Так, в группе «инфаркт» наблюдалась низкая активность ЩФ, в то время как в группах «диабет» и «ин-

фаркт+диабет» не обнаружено отличий в величине этого показателя в сравнении с контрольной группой, хотя наиболее значимое увеличение количества капилляров обнаружено именно в группах с диабетом (табл. 5). Тем не менее, полученные данные по увеличению плотности капилляров в патологически измененном миокарде, казалось бы, позволяют утверждать, что в усилении анаэробного звена энергопродукции при сочетании патологий важным звеном является улучшение кислородного обеспечения вследствие активации ангиогенеза. Однако, сопоставление данных по активности СДГ и ЩФ показало отсутствие связи между этими двумя показателями и плотностью капилляров. Так, в группах «диабет» и «инфаркт+диабет» показатели по количеству капилляров и активности ЩФ были одинаково высокими, но при этом активность СДГ при сочетанной патологии была почти в 4 раза выше при диабете (табл. 9). Наиболее низкая активность ЩФ (при высокой плотности капилляров) наблюдалась в группе «инфаркт», однако активность СДГ при этом была выше, чем в группе «диабет», хотя и не так значительно, как в контрольной группе или при сочетанной патологии. Активность ЛДГ была низкой в обеих группах с монопатологиями, но высокой при сочетанной патологии. Соответственно, нельзя однозначно предполагать прямую связь между изменениями интенсивности аэробного и анаэробного процессов энергообразования в МХ и кровоснабжением миокарда.

Таким образом, полученные данные демонстрируют, что при сочетании патологий КМЦ имеют менее выраженное нарушение энергетического метаболизма, и это, в какой-то степени связано с адаптивной активацией СДГ. Предполагается, что именно изменение активности СДГ обеспечивает адаптацию и поддержание энергетики клетки в условиях стресса [Кондрашова М.Н., 1991; Лукьянова Л.Д., 2001].

Сравнительный анализ выраженности стресс-реакции по изменению гормонального статуса крыс

Поскольку локальное нарушение кровоснабжения и инфаркт миокарда являются прямым вмешательством в работу сердца, это может предполагать активацию специфических для данного органа защитных реакций. Диабет вызывает опосредованное, не прямое воздействие на миокард, и нарушение метаболизма в данном случае является следствием изменений последнего на уровне всего организма.

Соответственно, повышение устойчивости миокарда при сочетании патологий связано, скорее всего, с проявлениями неспецифической стресс-реакции. Такая реакция является не только предшественником адаптивного ответа, но и играет важную роль в его формировании [Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988; Никонов В.В., 2002]. В классическом понимании общего адаптационного синдрома, стадия истинной резистентности характеризуется комплексом изменений в нейроэндокринной системе и, в частности, увеличением секреции тропных гормонов и гормонов коры надпочечников [Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А., 1979; Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988]. Различия в реакции миокарда на отдельные и сочетанные патологии могут быть обусловлены тем, что в разных исходных условиях одни и те же стресс-факторы могут восприниматься как различные по силе или степени биологической активности, что, в свою очередь, определяет разные по качеству стандартные адаптационные реакции организма [Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А., 1979]. Исходя из вышесказанного, представляется важной задачей провести сравнительный анализ и оценить выраженность стресс-реакции по изменению уровня стресс-гормонов в сыворотке крови крыс в динамике развития постинфарктного и диабетического повреждения миокарда крыс, а также их сочетании.

Миоглобин обнаруживается в плазме крови при поражениях (травма, ишемия) любого типа мышц и, в частности, является клиническим маркером некроза сердечной мышцы, ассоциированным с инфарктом миокарда. При исследуемых патологиях на всех стадиях их развития обнаружено увеличение уровня сывороточного миоглобина (табл. 11). Наиболее выраженные изменения наблюдаются, как и следовало ожидать в экспериментальной группе «инфаркт». В группе «диабет» увеличение миоглобина несколько меньше на ранних стадиях развития патологий, что обусловлено, по-видимому, опосредованным поражением сердечной мышцы вследствие нарушения метаболизма на уровне всего организма, приводящим, в конечном счете, к нарушению функции и гибели кардиомиоцитов, но требующим временных затрат. Таким образом, моделирование обеих патологий является сильным стрессором, приводящим к соответствующим функционально-метаболическим изменениям в организме крыс.

В качестве классических маркеров стресса, широко используемых в экспериментальных исследованиях, используют изменение уровня АКТГ и кортизола в плазме крови. К тому же соотношение

кортизол/инсулин позволяет дополнительно оценить выраженность стресс-реакции: его повышение отражает увеличение интенсивности катаболических процессов и снижение эффективности системы энергообразования [Пшенникова М.Г. и др., 1996].

При анализе показателей гормонального статуса в экспериментальных группах была выявлена только тенденция повышения уровня АКТГ в группе «инфаркт+диабет» по сравнению с аналогичными показателями в группах «контроль», отдельных патологий («инфаркт», «диабет») и сочетания «диабет+инфаркт» (табл. 11).

Таблица 11

Показатели стресс-реакции
при постинфарктном и диабетическом повреждении миокарда

подгруппы	миоглобин, нг/мл	АКТГ, нг/л	кортизол, нМ/л	инсулин, мкед/мл	кортизол/ инсулин	Всl-2, нг/мл
I группа – контроль						
-	27±1,5	85,6±2,4	16,3±0,5	9,3±0,5	1,8±0,1	12,7±0,3
II группа – «инфаркт»						
И2	97±2,0*	81,9±1,9	28,1±0,6*	8,3±1,9	3,4±0,3*	-
И4	80±2,5*	76,3±1,1*	29,4±0,9*	8,7±1,9	3,3±0,5*	-
И6	87±3,6*	74,4±1,1*	29,7±1,9*	8,3±1,4	3,4±0,6*	14,1±0,2
III группа – «диабет»						
Д2	56±1,8*	73,5±1,0*	33,7±3,6*	1,4±0,05*	24,2±2,5*	-
Д4	55±1,6*	77,0±1,2*	33,1±1,6*	1,5±0,09*	22,0±1,7*	-
Д6	94±1,1*	80,0±2,3	30,6±0,9*	1,4±0,16*	21,6±2,3*	17,4±0,4*
IV группа - «инфаркт+диабет»:						
И2Д2	57±1,5*	94,4±3,2*	30,6±2,4*	1,9±0,05*	15,0±2,0*	-
И2Д4	67±0,7*	98,1±2,7*	28,1±1,1*	2,0±0,08*	14,8±3,5*	-
И2Д6	115±3,9*	103,1±3,7*	32,1±2,2*	2,8±0,26*	11,9±2,6*	-
И4Д2	73±1,5*	86,1±2,0	45,9±5,0*	4,2±0,24*	10,9±0,5*	19,9±0,6*
И4Д4	81±2,9*	89,4±2,9*	45,6±1,6*	4,2±0,2*	11,0±0,2*	21,7±0,5*
И4Д6	138±2,5*	88,1±1,6*	47,5±1,2*	3,8±0,1*	12,5±0,6*	19,5±0,9*
И6Д2	91±1,8*	80,6±2,0	55,6±2,8*	2,8±0,23*	19,5±1,5*	-
И6Д4	95±1,5*	86,9±1,0	50,0±2,0*	3,7±0,3*	12,2±0,9*	-
И6Д6	118±3,1*	80,0±1,0	33,1±1,6*	2,9±0,2*	11,5±1,1*	-
V группа – «диабет+инфаркт»						
Д2И2	71±2,0*	75,9±4,1*	50,0±0,8*	2,4±0,3*	21,1±1,4*	-
Д2И4	125±4,8*	79,9±3,2	74,4±2,3*	3,1±0,1*	24,1±3,2*	-

Примечание: значения исследуемых показателей представлены в виде $M \pm m$ (средних значений \pm стандартная ошибка среднего);

* – результаты в столбце статистически значимо ($p < 0,05$) отличаются от соответствующего показателя в группе «контроль»

Возможно, что резких различий в содержании АКТГ не обнаружено из-за изменчивости содержания этого гормона в плазме крови в разное время суток и/или синтез АКТГ на рассматриваемых стадиях патологий ингибирован кортизолом по известному механизму отрицательной обратной связи.

С этой точки зрения более информативным стало исследование по содержанию кортизола: уровень кортизола в плазме крови повышался во всех экспериментальных группах в сравнении с группой «контроль» (табл. 11). Этот показатель был практически в 2 раза выше при раздельных и в 3–4 раза – при сочетанных патологиях (табл. 10). Содержание инсулина в плазме крови было сниженным во всех группах с диабетом относительно контроля, при этом величина этого показателя варьировалась в зависимости от моделируемой патологии, и наименьшее содержание инсулина ожидаемо наблюдалось в группе «диабет» (табл. 11). Наиболее резкое снижение уровня инсулина в сравнении с группой «контроль» ожидаемо наблюдалось в группе «диабет», но при этом в группах сочетанной патологии снижение было значительно менее выражено – в 2–3 раза ниже контрольного уровня.

Дополнительным параметром выраженности стресс-реакции при исследуемых патологиях явилось сопоставление содержания кортизола и инсулина в плазме крови по отношению друг к другу. Так, несмотря на то, что индекс кортизол/инсулин увеличен относительно контроля во всех экспериментальных группах, выявились значительные отклонения величины этого показателя в группах, как с раздельными, так и сочетанными патологиями (табл. 11). Наиболее высоким индекс кортизол/инсулин оказался в группах «диабет» и «диабет+инфаркт», что обусловлено, в первую очередь, патологией поджелудочной железы. Однако при сочетании «инфаркт+диабет» индекс кортизол/инсулин значительно ниже, чем в группе «диабет». При этом важно отметить, что при сочетании «диабет+инфаркт», индекс кортизол/инсулин был сопоставим с величиной этого показателя в группе «диабет», несмотря на значительное повышение содержания в плазме крови кортизола и инсулина. В совокупности, серьезные отклонения от контрольного уровня в величинах миоглобина, кортизола и индекса кортизол/инсулин свидетельствуют о более тяжелом протекании патологического процесса при сочетании «диабет+инфаркт».

Относительное снижение уровня АКТГ в группах отдельных патологий и группе «диабет+инфаркт», а также значительное увеличе-

ние индекса кортизол/инсулин в группах «диабет» и «диабет+инфаркт», может быть обусловлено истощением резервных свойств организма животных в указанных группах. Эти признаки являются свидетельством перехода стресс-реакции из стадии резистентности в стадию истощения [Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А., 1979; Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988], то есть в стадию дезинтеграции регуляторных и исполнительных механизмов [Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988; Никонов В.В., 2002; Мазуркевич Г.С. и др., 2004]. Возможно, это объясняется генерализованной реакцией организма вследствие мультиорганный поражения при диабете. Дополнительным подтверждением этому предположению являются данные по исследованию морфометрических (масса тела и сердца, степень гипертрофии миокарда) и метаболических (уровень глюкозы и свободных жирных кислот в плазме крови, скорость поглощения кислорода и разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях сердца) параметров при исследуемых патологиях (глава 5). Патологические проявления достаточно быстро развиваются на ранних стадиях в группах «инфаркт» и «диабет», а при сочетанных патологиях этот процесс замедлен в 1,5–2 раза в сравнении с монопатологиями, особенно в сравнении с диабетом. При сравнении же показателей в группах сочетанной патологии приводит к выводу, что предшествование диабета инфаркту приводит к ухудшению всех рассмотренных показателей и повышению смертности животных по сравнению с моделью, в которой инфаркт предшествует диабету.

Некоторая отсрочка фатальных проявлений при сочетании инфаркт+диабет может быть обусловлена преобладанием процесса апоптоза при гибели кардиомиоцитов, что подтверждается характерными изменениями структуры кардиомиоцита, в частности, конденсацией и фрагментацией ядра, и отсутствием проявления воспалительной реакции, характерной для некроза (глава 7). Усиление апоптоза, в свою очередь, может активировать противоапоптозную систему: известно, что гетеродимеризация между про- и антиапоптозными представителями семейства Bcl-2 ингибирует проапоптозные белки [Самуилов В.Д., Олескин А.В., Лагунова Е.М., 2000]. Исследование содержания противоапоптозного протеина Bcl-2 в кардиомиоцитах животных в группах «инфаркт» и «диабет» на стадии развитой патологии (И6 и Д6) в сравнении с группой «инфаркт+диабет» в подгруппе И4Д2-И4Д6, животные которой по всем изученным в настоящем исследовании показателям демонстрируют

повышенную устойчивость к патологическим воздействиям показало повышенное содержания противоапоптозного протеина Bcl-2 в кардиомиоцитах относительно контрольной группы и отдельных патологий (табл. 11), что возможно, и является причиной «торможения» потери функциональной активности и гибели кардиомиоцитов при сочетании патологий.

Меньшая выраженность стресс-реакции при сочетанной патологии относительно монопатологий может быть обусловлена перекрестной адаптацией и включением альтернативных, как специфических, так и неспецифических, механизмов кардиопротекции. Известно, что одновременно с активацией стресс-реализующих систем происходит повышение активности сопряженных с ними стресс-лимитирующих систем, в частности, эндогенной опиоидной системы [Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988; Парин С.Б., 2010], способной существенно влиять на функции организма именно в стадии истощения [Никонов В.В., 2002; Мазуркевич Г.С. и др., 2004]. Показано, что опиоидная система значительно повышает устойчивость миокарда при различных стрессовых и патологических воздействиях [Сазонова Е.Н. и др., 2012]. Эндогенные опиоиды способны оказывать кардиопротекторный эффект, как напрямую, через активацию опиоид-чувствительных рецепторов на поверхности КМЦ, так и, косвенно, через модуляцию секреции инсулина и кортизола [Maslov L.N. et al. 2009; Лишманов Ю.Б. и др., 2012].

Таким образом, на основании проведенного исследования, можно заключить, что в условиях эксперимента ишемическое воздействие на сердечную мышцу вследствие инфаркта способствует наименьшей выраженности системной стресс-реакции и большему проявлению эффекта перекрестной адаптации при сочетании патологий «инфаркт+диабет», что, по-видимому, обусловлено активацией стресс-лимитирующих систем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты собственных исследований и литературные данные в совокупности демонстрируют роль свободных жирных кислот в регуляции метаболизма кардиомиоцитов как при краткосрочной, так и при долговременной адаптации, а также «выбраковки» клеток с необратимыми структурно-функциональными нарушениями путем ЖК-опосредованного механизма запуска апоптоза. Сам факт увеличения циркулирующих жирных кислот, как компонента неспецифической стресс-реакции, подчеркивает их ведущую роль в в запуске адаптивных, компенсаторно-приспособительных процессов. Жирные кислоты оказывают разнообразное действие в зависимости от интенсивности таких процессов, как увеличение свободных жирных кислот в плазме, транспортировки их в кардиомиоциты и утилизации в клетке (здесь и далее высказанные утверждения основаны на литературных данных, ссылки на которые приведены в соответствующих разделах литературного обзора). В зависимости от возможности и состоятельности соответствующих функциональных систем свободные жирные кислоты могут оказывать обратимое стимулирующее или ингибирующее влияние на различные метаболические процессы в кардиомиоцитах, выступая в роли своеобразного адаптера.

По совокупности собственных данных, так и полученных из обзора литературы последнего десятилетия представляется вероятным следующее развитие событий, приводящее, по мере увеличения концентрации свободных жирных кислот в клетке, к включению разных защитных механизмов на клеточном уровне. На стадии срочной адаптации СЖК оказывают влияние преимущественно на уровне дыхательной цепи митохондрий. Ингибирование жирными кислотами в кардиомиоцитах I и III комплексов электрон-транспортной цепи вызывает компенсаторную активацию комплекса II, что приводит к усилению образования сукцината, активации СДГ и сукцинатоксидазного пути окисления и поддержанию необходимого для нормального функционирования уровня АТФ в клетке.

Усиление образования сукцината создает предпосылки для стабилизации и аккумуляции HIF-1 α , индукции транскрипционных процессов с экспрессией HIF-1-зависимых генов-мишеней и синтезом защитных адаптивных белков.

Свободные жирные кислоты при дальнейшем увеличении их внутриклеточной концентрации оказывают активирующее влияние на перенос протонов через комплекс I, что приводит к восстановлению окисления НАД-зависимых субстратов.

При более серьезном накоплении СЖК уже не оказывают ресопрягающего действия, но вызывают «мягкое» разобщение окисления и фосфорилирования посредством UCP-белков и/или АТФ/АДФ-и аспартат/глутаматного антипортеров, что снижает эффективность синтеза АТФ, но предотвращает образование и накопление АФК, тем самым защищая клетку от процессов перекисного окисления липидов, повреждения белков и ДНК. Дополнительным эффектом свободных жирных кислот может быть стимуляция формирования митохондриальных пор в низкопроводящем «мерцающем» состоянии для поддержания внутриклеточного гомеостаза ионов кальция.

Избыточное накопление СЖК по механизму отрицательной обратной связи подавляет транспорт ЖК их переносчиком FАТ/CD36 и ингибирует фосфолипазу A₂, что способствует снижению интенсивности процессов поглощения и накопления жирных кислот в клетке.

СЖК-опосредованное ингибирование ацетил КоА-карбоксилазы вызывает реципрокное увеличение активности пальмитоилтрансферазы I, что приводит к усилению бета-окисления ЖК в митохондриях и снижению концентрации цитозольных ЖК, чем предотвращается или, как минимум, снижается интенсивность образования в кардиомиоцитах потенциально опасных липидных метаболитов (диацилглицерол, церамиды, триглицериды).

Увеличение свободных жирных кислот приводит к гиперэкспрессии PPARs в кардиомиоцитах, усилению транскрипции соответствующих генов-мишеней и улучшению метаболизма глюкозы и жирных кислот, то есть к повышению окислительной активности сердца.

И, наконец, при дальнейшем нарастании метаболических нарушений в кардиомиоцитах и исчерпании возможностей их компенсаторных реакций, чрезмерное накопление СЖК индуцирует открытие митохондриальных пор в высокопроводящем состоянии, что приводит к выравниванию ионных градиентов, набуханию митохондрий, разворачиванию крист, разрыву внешней мембраны митохондрий, высвобождению проапоптотических белков и апоптозу кардиомиоцитов.

Помимо регуляции процессов на клеточном уровне, СЖК способны регулировать метаболизм сердца опосредованно, через центральные механизмы адаптации.

Представляется вполне вероятным, что повышенная активность симпатoadреналовой, гипоталамо-гипофизарной и эндогенной опиоидной систем при долгосрочной адаптации может, помимо известных механизмов, поддерживаться через СЖК-опосредованное изменение метаболизма нейронов гипоталамуса по механизму положительной обратной связи.

СЖК оказывают модулирующее влияние на метаболизм через генетический аппарат путем усиления экспрессии HIF-1 и PPAR-зависимых генов-мишеней, что способствует улучшению доставки кислорода (эритропоэза и ангиогенеза), метаболической адаптации (транспорта глюкозы, ионного транспорта, усилению гликолитической продукции АТФ) и клеточной пролиферации.

Увеличение уровня циркулирующих жирных кислот приводит к стимуляции адипоцитов и увеличению синтеза лептина и адипонектина, обладающих выраженным кардиопротекторным действием. Лептин и адипонектин снижают риск липотоксичности путем повышения бета-окисления жирных кислот и уменьшения интрамиокардиального пула триглицеридов. Адипонектин, через механизм, опосредованный АМФ-активируемой протеинкиназой способствует сохранению сократительной способности миокарда, ограничивает зону инфаркта и гипертрофию миокарда, улучшает коронарный кровоток, ингибирует апоптоз кардиомиоцитов.

Стимуляция свободными жирными кислотами гиперэкспрессии PPAR-гамма снижает уровень циркулирующих жирных кислот. СЖК-стимулированное улучшение липидного обмена предотвращает катехсию, тем самым снижая риск летального исхода.

Таким образом, увеличение концентрации циркулирующих жирных кислот является, по нашему мнению, необходимым компонентом триггерного механизма процессов адаптации в условиях воздействия различных стрессовых факторов. Свободные жирные кислоты являются физиологическими модуляторами метаболических процессов в кардиомиоцитах, в том числе, при хронической ишемии миокарда, и, по-видимому, исполняют роль сигнальных молекул в активации центральных и периферических механизмов адаптации.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гидролиз фосфолипидов фосфолипазами A₂ и C нарушает конформацию аполипопротеина B-100 на поверхности ЛПНП, снижающих их устойчивость к ассоциации / Д.В. Аксенов [и др.] // Бюлл. exper. биол. мед. – 2005. – Т. 140. – № 10. – С. 418–422.*
2. *Александров А.А. Диабетическое сердце: схватка за митохондрии // Consilium medicum. – 2003. – Т. 5. – № 9. – С. 509–513.*
3. *Александров А.А., Кухаренко С.С., Ядрихинская М.Н. и др. Тиазолидиндионы: «герои нашего времени» // Лечащий врач. – 2012. – № 11. – С. 55–60.*
4. *Александров А.А., Чукаева И.И., Ядрихинская М.Н., Шацкая О.А. Тиазолидиндионы: всерьез и надолго // Медицинский совет. – 2011. – № 11. – С. 11–12.*
5. *Александров А.А., Ядрихинская М.Н., Кухаренко С.С. и др. Статины и сахарный диабет: незнание — не аргумент // Лечащий врач. – 2012. – № 7. – С. 116–121.*
6. *Антонов В.Ф., Шевченко Е.В. Липидные поры и стабильность клеточных мембран // Вестник РАМН. – 1995. – № 10. – С. 48–55.*
7. *Арипов М.А., Камардинов Д.Х., Мадоян С.В. Изменения метаболизма жирных кислот и углеводов при острой ишемии миокарда // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2005. – № 4. – С. 95–98.*
8. *Аронов Д.М. Каскад терапевтических эффектов статинов // Кардиология. – 2004. – № 10. – С. 85–94.*
9. *Аронов Д. М. Плейотропные эффекты статинов // Кардиология. – 2008. – № 8. – С. 60–68.*
10. *Аронов Д.М. Статины – основное лекарственное средство для реального снижения смертности от ИБС // Рус. мед. журнал. – 2012. – № 4. – С. 1–7.*
11. *Асташкин Е.И., Глезер М.Г. Липотоксические эффекты в сердце, наблюдаемые при ожирении // Артериальная гипертензия. – 2009. – Т. 15. – № 3. – С. 335–341.*
12. *Атрощенко Е.С. Статины и коронарная болезнь сердца. – Минск: ООО «Белпринт», 2007. – 236 с.*
13. *Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Попов С.В. Разработка модели сочетанной патологии сердечной недостаточности и сахарного диабета 1-го типа в эксперименте // Бюл. exper. биол. мед. – 2012. – Т. 153. – № 4. – С. 523–526.*

14. *Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Цапко Л.П. и др.* Особенности инотропных реакций миокарда крыс на экстрасистолические воздействия при сочетанном развитии постинфарктного кардиосклероза и сахарного диабета // Вестник аритмологии. – 2009. – № 55. – С. 56–59.
15. *Белослудцев К.Н., Белослудцева Н.В., Миронова Г.Д.* Возможный механизм образования и регуляции пальмитат-индуцируемой циклоспорин А-нечувствительной митохондриальной поры // Биохимия. – 2005. – Т. 70. – № 7. – С. 987–994.
16. *Белослудцев К.Н., Белослудцева Н.В., Миронова Г.Д.* Роль митохондриальной пальмитат/ Ca^{2+} -активируемой поры в пальмитат-индуцированном апоптозе // Биофизика. – 2008. – Т. 53. – С. 967–971.
17. *Бережнов А.В., Федотова Е.И., Ненов М. Н. и др.* Кальциевая перегрузка и гибель кардиомиоцитов в присутствии активированных производных жирных кислот. Вклад фосфолипаз // Биологические мембраны. – 2010. – Т. 27. – № 1. – С. 67–76.
18. *Брагина Н.А., Чупин В.В., Булгаков А.Г., Шальнов А.Н.* Липидные ингибиторы фосфолипазы A_2 // Биоорганическая химия. – 1999. – Т. 25. – № 2. – С. 83–96.
19. *Булгак А.Г., Островский Ю.П., Рачок Л.В. и др.* Современный взгляд на проблему хронической сердечной недостаточности // Кардиология в Беларуси. – 2009. – № 3. – С. 114–127.
20. *Вельтищев Ю.Е., Юрьева Э.А., Мусаев М.А., Шеманова Г.Ф.* Фосфолипазы человека в норме и при патологии // Вопр. мед. химии. – 1981. – Т. 27. – № 4. – С. 441–449.
21. *Гиляревский С.Р.* Современные тенденции в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с атеросклерозом: эффективность интенсивных режимов применения статинов // Сердце. – 2005. – Т. 4. – № 2. – С. 88–92.
22. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 327 с.
23. *Грибань П.А., Мартыненко Е.Е., Лемешко Т.Н.* Анализ морфологических изменений в аутодермотрансплантанте после кожной пластики // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 11. – С. 37–41.
24. *Губергриц Н.Б., Лукашевич Г.М., Загоренко Ю.А. и др.* Патогенетическое, клиническое и диагностическое значение фосфолипазы A_2 в патогенезе панкреатитов (обзор литературы) /

- Н. Б. Губергриц // Клинич. лаб. диагностика. – 2000. – № 5. – С. 3–8.
25. Данковцева Е.Н., Затейщиков Д. А. Биомаркеры в кардиологии: липопротеинассоциированная фосфолипаза A_2 // Фарматека. – 2007. – № 15. – С. 22–28.
26. Дедов И.И. Сахарный диабет в Российской Федерации: проблемы и пути решения // Сахарный диабет. – 1998. – № 1. – С. 7–18.
27. Дзюман А.Н. Морфофункциональное состояние ушка правого предсердия у детей с кардиохирургической патологией после проведения модифицированной ультрафильтрации: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Томск, 2002. – 22 с.
28. Дубилей Т.А., Бадова Т.А., Мигован С.А., Рушкевич Ю.Е. Влияние ишемии/реперфузии на функцию изолированного сердца у крыс разного возраста со стрептозотоциновым сахарным диабетом // Проблемы старения и долголетия. – 2007. – Т. 16. – № 1. – С. 11–21.
29. Егорова М.В., С.А.Афанасьев, Кондратьева Д.С., Реброва Т.Ю. Сочетание постинфарктного ремоделирования и сахарного диабета усиливает адаптивные реакции организма // XII съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова. Тезисы докладов – Москва–Калуга: Типография ООО «Бэст-принт», 2010. – С. 202.
30. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов-на-Дону: Ростовский ун-т, 1979. – 128 с.
31. Гора Е.П. Экология человека. – М.: Изд-во «Дрофа», 2007. – 760 с.
32. Ищук В.А. Коррекция нарушений липидного обмена у пациентов с высоким кардиоваскулярным риском // Укр. мед. журнал. – 2011. – Т. 84. – С. 64–65.
33. Камзеев В.Д., Соколова А.А., Рейхерт Л.И. и др. Мембрано-дестабилизирующие процессы и состояние антиоксидантной защиты в эритроцитах больных рассеянным склерозом // Казанский мед. журн. – 2005. – Т. 86. – № 5. – С. 375–379.
34. Капелько В.И. Эволюция концепций и метаболическая основа дисфункции миокарда // Кардиология. – 2005. – № 9. – С. 55–61.
35. Квитницкая–Рыжова Т.Ю., Хаблак Г.В., Ступина А.С., Михальский С.А. и др. Возрастные ультраструктурные и ультрацитохимические особенности гистогематических барьеров различных органов при экспериментальном сахарном диабете // Проблемы старения и долголетия. – 2011. – Т. 20 – № 3. – С. 302–310.

36. *Ким Н.П.* Регуляция энергетического обмена в миокарде с помощью комбинации глюкозы, лактата и сукцината: Автореф. дисс. канд. биол. наук. – М., 1987. – 24 с.
37. *Кожина О.В.* Особенности разобщающего действия жирных кислот в митохондриях печени при старении животных и при окислительном стрессе in vitro: Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Казань, 2007. – 25 с.
38. *Кожина О.В., Каратецкова М.П., Самарцев В.Н.* Ресопрягающее действие АДФ при разобщении пальмитатом окислительного фосфорилирования в митохондриях печени // Биол. мембраны. – 2006. – Т. 23. – № 3. – С. 213–218.
39. *Кожина О.В., Степанова Л.А., Самарцев В.Н.* Особенности разобщающего действия жирных кислот в митохондриях печени при окислительном стрессе // Биол. мембраны. – 2007. – Т. 24, № 5. – Р. 421–429.
40. *Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Фалалеева Л.П., Шахов В.П.* Инотропная реакция миокарда крыс с постинфарктным кардиосклерозом на экстрасистолические воздействия // Бюлл. exper. биол. мед. – 2005. – № 6. – С. 613–616.
41. *Кондрашова М.Н.* Реципрокная регуляция дыхания и структурного состояния митохондрий гормонально-субстратной системой // Митохондрии, клетки и активные формы кислорода. – Пущино, 2000. – С. 71–74.
42. *Кондрашова М.Н.* Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях ткани // Биохимия. – 1991. – Т. 56. – С. 388–405.
43. *Лебедев А.В., Афанасьев С.А., Алексеева Е.Д.* Влияние возраста и ишемии на липопероксиды и липидорастворимые антиоксиданты сердца человека // Бюл. exper. биол. мед. – 1995. – Т. 6. – С. 584–586.
44. *Лешманов Ю.Б., Нарыжная Н.В., Цибульников С.Ю. и др.* Роль μ -, δ - и κ -опиоидных рецепторов в формировании кардиопротекторного эффекта адаптации к хронической нормобарической гипоксии // Сиб. мед. журнал (Томск). – 2012. – Т. 27. – № 1. – С. 111–114.
45. *Ллойд З.* Гистохимия ферментов. – М.: Мир, 1982. – 326 с.
46. *Лукьянова Л.Д.* Современные проблемы гипоксии // Вестник РАМН. – 2000. – № 11. – С. 3–12.

47. *Лукьянова Л.Д.* Сигнальная функция митохондрий при гипоксии и адаптации // Патогенез. – 2008. – № 3. – С. 4–12.
48. *Лукьянова Л.Д.* Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // Патол. физиол. exper. терапия. – 2011. – С. 3–19.
49. *Лукьянова Л.Д., Германова Э.Л., Копаладзе Р.А.* Закономерности формирования резистентности организма при разных режимах гипоксического preconditionирования: роль гипоксического периода и реоксигенации // Бюлл. exper. биол. мед. – 2009. – Т. 147. – № 4. – С. 380–384.
50. *Мазуркевич Г.С., Тюкавин А.И., Джурко Б.И. и др.* Шок: теория, клиника, организация противошоковой помощи / под ред. Г.С. Мазуркевич, С.Ф. Багненко. – М.: Политехника, 2004. – 539 с.
51. *Медведев Ю.В., Толстой А.Д.* Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. – М.: ООО «Терра-Календер и Промоушн», 2000. – 232 с.
52. *Меерсон Ф.З.* Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. – М.: Медицина, 1984. – 269 с.
53. *Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г.* Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
54. *Молчанов С. Н., Люсов С.А., Говорин А.В., Неверов И.В. и др.* Сывороточные липиды при различных стадиях и морфофункциональных типах сердечной недостаточности у больных, перенесших инфаркт миокарда // Рос. кардиол. журнал. – 2005. – № 2 – С. 18–25.
55. *Мохова Е.Н., Хайлова Л.С.* Участие анионных переносчиков внутренней мембраны митохондрий в разобщающем действии жирных кислот // Биохимия. – 2005. – Т. 70. – № 2. – С. 197–202.
56. *Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Непомнящих Г.И.* Морфометрия и стереология гипертрофии сердца. – Новосибирск: Наука, 1986. – 304 с.
57. *Николс Д.Д.* Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию. – М.: Мир, 1985. – 190 с.
58. *Никонов В.В.* Стресс: современный патофизиологический подход к лечению. – Харьков: Консум, 2002. – 240 с.
59. *Патофизиология : учебник : в 2 т. / под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой.* – 4-е изд., перераб. и доп. – ГЭОТАР-Медиа, 2009.

60. *Оковитый С.В.* Клиническая фармакология иммунодепрессантов // *Обзоры клин. фарм. лек. терапии.* – 2003. – Т. 2. – № 2. – С. 2–34.
61. *Павловская Н.С., Грабельных О.И., Побежимова Т.П. и др.* Чувствительность дыхания и набухания митохондрий к соединениям, изменяющим проницаемость мембран // *Вестник Том. гос. ун-та. Биология.* – 2010. – № 3. – № 11. – С. 119–132.
62. *Парин С.Б.* Роль эндогенной опиоидной системы в формировании экстремальных состояний: Автореф. дисс. д-ра биол. наук. – Москва, 2010. – 50 с.
63. *Пауков В.С., Фролов В.А.* Элементы теории патологии сердца. – М.: Медицина, 1982. – 272 с.
64. *Подобед В.М., Кузьменко А.Т.* Актуальные вопросы терапевтической практики: СТАТИНЫ. – Минск: БелМАПО, 2011. – 23 с.
65. *Пшенникова М.Г., Голубева Л.Ю., Кузнецова Б.А. и др.* Различия в стресс-реакции и развитии адаптации к стрессу у крыс Август и Вистар // *Бюл. экспер. биол. мед.* – 1996. – Т. 122. – № 8. – С. 156–159.
66. *Розенфельд А.С., Маевский А.И.* Стресс и некоторые проблемы адаптационных перестроек при спортивных нагрузках // *Теория и практика физической культуры.* – 2004. – № 4. – С. 39–44.
67. *Сазонова Е.Н., Xu C.Q., Zhao Y.J., Тимошин С.С.* Роль опиоидных пептидов и полиаминов в коррекции кардиальных последствий антенатальной гипоксии // *Дальневосточный медицинский журнал.* – 2012. – № 4. – С. 119–123.
68. *Сакс В. А., Розенштраух Л. В.* Физиология кровообращения. Физиология сердца: Руководство по физиологии – Л.: Наука, 1980.
69. *Самарцев В.Н., Кожина О.В., Полищук Л.С.* Количественная характеристика участия ADP/АТФ- и аспартат/глутаматного антипортеров в разобщающем действии жирных кислот в митохондриях печени при условии формирования разобщающего комплекса // *Биол. мембраны.* – 2006. – Т. 23. – № 5. – С. 402–411.
70. *Самарцев В.Н., Кожина О.В.* Окислительный стресс как фактор регуляции разобщающего действия жирных кислот при участии ADP/АТФ-антипортера и аспартат/глутаматного антипортера в митохондриях печени старых крыс // *Биохимия.* – 2007. – Т. 73. – С. 972–980.
71. *Самуилов В.Д., Олескин А.В., Лагунова Е.М.* Программируемая клеточная смерть // *Биохимия.* – 2000. – Т. 65. – № 8. – С. 1029–1046.

72. Сапрунова В.Б. Ультраструктура митохондрий в условиях окислительного стресса: Автореф. дисс. д-ра мед. наук. – Москва, 2008. – 45 с.
73. Сапрунова В.Б., Солодовникова И.М., Бакеева Л.Е. Выявление цитохром с оксидазной активности в митохондриях кардиомиоцитов изолированной ткани миокарда при длительном действии гипоксии // Цитология. – 2008. – Т. 50. – № 3. – С. 268–274.
74. Симонян Р.А., Пустовидко А. В., Высоких М. Ю. и др. Разобщение митохондрий лаурилсульфатом может быть опосредовано освобождением связанных жирных кислот // Биохимия. – 2006. – Т. 71 – № 12. – С. 1677–1682.
75. Сисакян А.С., Оганян В.А., Семерджян А.Б., Петросян М.В. и др. Влияние фактора ангиогенеза на морфофункциональное состояние миокарда у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда // Росс. кардиол. журнал. – 2008. – № 2. – С. 63–67.
76. Судаков Н.П., Никифоров С.Б., Константинов Ю.В. Механизмы участия митохондрий в развитии патологических процессов, сопровождающихся ишемией и реперфузией // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – Т. 51. – № 5. – С. 332–336.
77. Телкова И.Л., Тепляков А.Т. Взаимосвязи между изменениями коронарного кровотока, энергетическим метаболизмом миокарда и гиперинсулинемией у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. – 2005. – № 8. – С. 61–68.
78. Терешина Е.В. Роль жирных кислот в развитии возрастного окислительного стресса. Гипотеза // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20. – № 1. – С. 59–65.
79. Федотова Г. Г., Киселева Р. Е. Митохондрии как инициаторное патогенетическое звено дистрофического процесса // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – № 7. – С. 59–60.
80. Фролов В.А., Пухляк В.П. Морфология митохондрий в норме и патологии. – М.: Изд-во УДН, 1989. – 142 с.
81. Хундрякова Н.В., Захарченко М.В., Захарченко А.В., Кондрашова М.Н. Гиперактивация сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах крови новорожденных крысят // Биохимия. – 2008. – Т. 73. – № 3. – 414–419.
82. Шабалина И.Г., Крамарова Т.В., Крамарова Л.И. и др. Аденин-нуклеотидтранслоказа в митохондриях бурой жировой ткани: содержание и функциональное значение // Бюлл. СО РАМН. – 2010. – Т. 30. - № 2. – С. 37–43.

83. Юшков П.В., Опаленов К.В. Морфогенез микроангиопатий при сахарном диабете // Сахарный диабет. – 2001. – № 1. – С. 53–56.
84. Abel E.D., Doenst T. Mitochondrial adaptations to physiological vs. pathological cardiac hypertrophy // Cardiovas. Res. 2011. – V. 90. – P. 234–242.
85. Abel E.D., Kaulbach H.C., Tian R. et al. Cardiac hypertrophy with preserved contractile function after selective deletion of GLUT4 from the heart // J. Clin. Invest. – 1999. – V. 104. – P. 1703–1714.
86. Abel E.D., Litwin S.E., Sweeney G. Cardiac remodeling in obesity // Physiol. Rev. – 2008. – V. 88. – P. 389–419.
87. Altarejos J.Y., Taniguchi M., Clanachan A.S., Lopaschuk G.D. Myocardial ischemia differentially regulates LKB1 and an alternate 5'-AMP-activated protein kinase kinase // J. Biol. Chem. – 2005. – V. 280. – P. 183–190.
88. Amerkhanov Z.G., Egorova M.N., Markova O.V., Mokhova E.N. Carboxyatractylate- and cyclosporin A- sensitive uncoupling in liver mitochondria of ground squirrels during hibernation and arousal // Biochem. Mol. Biol. Intern. – 1996. – V. 38. – P. 863–870.
89. An D., Rodrigues B. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2006. – V. 291. – P. H1489–H1506.
90. Ashrafian H., Horowitz J.D., Frenneaux M.P. Perhexiline // Cardiovasc. Drug. Rev. – 2007. – V. 25. – P. 76–97.
91. Ashrafian H., Redwood C., Blair E., Watkins H. Hypertrophic cardiomyopathy: a paradigm for myocardial energy depletion // Trends. Genet. – 2003. – № 19. – P. 263–268.
92. Argaud L., Gateau-Roesch O., Chalabreysse L. et al. Preconditioning delays Ca^{2+} -induced mitochondrial permeability transition // Cardiovasc. Res. – 2004. – № 61. – P. 115–122.
93. Atkinson L.L., Fischer M.A., Lopaschuk G.D. Leptin activates cardiac fatty acid oxidation independent of changes in the AMP-activated protein kinase-acetyl-CoA carboxylase-malonyl-CoA axis // J. Biol. Chem. – 2002. – V. 277. – P. 29424–29430.
94. Baartscheer A., Schumacher C.A., van Borren M.M., Belterman C.N. et al. Increased Na^+/H^+ -exchange activity is the cause of increased $[\text{Na}^+]_i$ and underlies disturbed calcium handling in the rabbit pressure and volume overload heart failure model // Cardiovasc. Res. – 2003. – V. 57. – P. 1015–1024.

95. *Baines C.P.* The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury // *Basic. Res. Cardiol.* – 2009. – V. 104. – № 2. – P. 181–188.
96. *Balaban R.S.* Cardiac energy metabolism homeostasis: role of cytosolic calcium // *J. Mol. Coll. Cardiol.* – 2002. – V. 34. – P. 1259–1271.
97. *Beer M., Seyfarth T., Sandstede J. et al.* Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with ^{31}P -SLOOP magnetic resonance spectroscopy // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2002. – V. 40. – P. 1267–1274.
98. *Belmadani S., Pous C., Ventura-Clapier R., Fischmeister R., Mery P.F.* Post-translational modifications of cardiac tubulin during chronic heart failure in the rat // *Mol. Cell. Biochem.* – 2002. – V. 237. – P. 39–46.
99. *Bers D.M., Barry W.H., Despa S.* Intracellular Na^+ regulation in cardiac myocytes // *Cardiovasc. Res.* – 2003. – V. 57. – P. 897–912.
100. *Bessman S.P., Geiger P.J.* Transport of energy in muscle: the phosphorylcreatine shuttle // *Science.* – 1981. – V. 211 – P. 448–452.
101. *Betteridge D.J.* Epidemiology of the cardiac complications of type 2 diabetes mellitus // *Medikographia.* - 2001. - V. 23. - P. 95-99.
102. *Boudina S., Abel E.D.* Mitochondrial uncoupling: a key contributor to reduced cardiac efficiency in diabetes // *Physiology.* – 2006. – V. 21. – P. 250–258.
103. *Boudina S., Sena S., Theobald H., Sheng X. et al.* Mitochondrial energetics in the heart in obesity-related diabetes: direct evidence for increased uncoupled respiration and activation of uncoupling proteins // *Diabetes.* – 2007. – V. 56. – P. 2457–2466.
104. *Brand M.D., Bishop T., Boutilier R. G., St-Pierre J.* Mitochondrial proton conductance, standard metabolic rate and metabolic depression. – *Life in the Cold* / Ed. G. Heldmaier, M. Klingenspor. – Berlin: Springer, 2002. – P. 413–30.
105. *Brindley D.N., Kok B.P.C., Kienesberger P.C., Lehner R.B., Dyck J.R.B.* Shedding light on the enigma of myocardial lipotoxicity: the involvement of known and putative regulators of fatty acid storage and mobilization // *Am. J. Physiol.* – 2010. – V. 298. – № 5. – P. E897–E908.
106. *Buchanan J., Mazumder P.K., Hu P., Chakrabarti G. et al.* Reduced cardiac efficiency and altered substrate metabolism precedes the onset of hyperglycemia and contractile dysfunction in two mouse mod-

- els of insulin resistance and obesity // *Endocrinology*. – 2005. – V. 146. – P. 5341–5349.
107. *Burkart E.M.*, Sambandam N., Han X., Gross R.W. et al. Nuclear receptors PPARbeta/delta and PPARalpha direct distinct metabolic regulatory programs in the mouse heart // *J. Clin. Invest.* – 2007. – V. 117. – P. 3930–3939.
108. *Chang J.J.*, Musser H., McGregor H. Phospholipase A₂: function and pharmacological regulation // *Biochem. Pharmacol.* - 1987. - V. 36. - P.2429-2436.
109. *Chandler M.P.*, Kerner J., Huang H., Vazquez E. et al. Moderate severity heart failure does not involve a downregulation of myocardial fatty acid oxidation // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – V. 287. – P. H1538–H1543.
110. *Chapman C.J.*, Puri A.K., Taylor R.W., Pfeiffer D.R. General features in the stoichiometry and stability of ionophore A23187-cation complexes in homogeneous solution // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1990. – V. 281. – № 1. – P. 44–57.
111. *Chen H.*, Shen W.L., Wang X.H. Paradoxically enhanced heart tolerance to ischaemia in type 1 diabetes and role of increased osmolarity // *Clin. Exper. Pharmacol. Physiol.* - 2006. – V. 10. – P. 910–916.
112. *Chess D.J.*, Lei B., Hoit B.D., Azimzadeh A.M., Stanley W.C. Effects of a high saturated fat diet on cardiac hypertrophy and dysfunction in response to pressure overload // *J. Card. Fail.* – 2008. – V. 14. – P. 82–88.
113. *Chess D.J.*, Stanley W.C. Role of diet and fuel overabundance in the development and progression of heart failure // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – V. 79. – P. 269–278.
114. *Cook W.S.*, Yeldandi A.V., Rao M.S., Hashimoto T., Reddy J.K. Less extrahepatic induction of fatty acid beta-oxidation enzymes by PPAR alpha // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – V. 278. – P. 250–257.
115. *Courchesne-Smith C.*, Jang S.H., Shi Q., DeWille J. et al. Cytoplasmic accumulation of a normally mitochondrial malonyl-CoA decarboxylase by the use of an alternate transcription start site // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1992. – V. 298. – P. 576–586.
116. *Davila-Roman V.G.*, Vedala G., Herrero P., de las Fuentes L. et al. Altered myocardial fatty acid and glucose metabolism in idiopathic dilated cardiomyopathy // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2002. – V. 40. – P. 271–277.

117. *Davos C.H., Doehner W., Rauchhaus M., Cicoira M. et al.* Body mass and survival in patients with chronic heart failure without cachexia: the importance of obesity // *J. Card. Fail.* – 2003. – V. 9. – P. 29–35.
118. *Di Lisa F., Menabo R., Canton M., Petronilli V.* The role of mitochondria in the salvage and the injury of the ischemic myocardium // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – V. 1366. – № 1–2. – P. 69–78.
119. *Dolder M., Walzel B., Speer O. et al.* Inhibition of the mitochondrial permeability transition by creatine kinase substrates. Requirement for microcompartmentation // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278. – P. 17760–17766.
120. *Duchen M.R., Verkhratsky A., Muallem S.* Mitochondria and calcium in health and disease // *Cell Calcium.* – 2008. – V. 44. – P. 1–5.
121. *Dudkina N.V., Eubel H., Keegstra W., Boekema E.J., Braun H.P.* Structure of a mitochondrial supercomplex formed by respiratory-chain complexes I and III // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – V. 102. – P. 3225–3229.
122. *Duncan J.G., Fong J.L., Medeiros D.M., Finck B.N., Kelly D.P.* Insulin-resistant heart exhibits a mitochondrial biogenic response driven by the peroxisome proliferator-activated receptor- α /PGC-1 α gene regulatory pathway // *Circulation.* – 2007. – V. 115. – P. 909–917.
123. *Dyck J.R.* The ischemic heart: starving to stimulate the adiponectin-AMPK signaling axis // *Circulation.* – 2007. – V. 116. P. 2779–2781.
124. *Dyck J.R., Berthiaume L.G., Thomas P.D., Kantor P.F. et al.* Characterization of rat liver malonyl-CoA decarboxylase and the study of its role in regulating fatty acid metabolism // *Biochem. J.* – 2000. – V. 350. – P. 599–608.
125. *Dyck J.R., Cheng J.F., Stanley W.C., Barr R. et al.* Malonyl coenzyme A decarboxylase inhibition protects the ischemic heart by inhibiting fatty acid oxidation and stimulating glucose oxidation // *Circ. Res.* – 2004. – V. 94. – P. 78–84.
126. *Dyck J.R., Hopkins T.A., Bonnet S., Michelakis E.D. et al.* Absence of malonyl coenzyme A decarboxylase in mice increases cardiac glucose oxidation and protects the heart from ischemic injury // *Circulation.* – 2006. – V. 114. – P. 1721–1728.
127. *Dyck J.R., Lopaschuk G.D.* Malonyl CoA control of fatty acid oxidation in the ischemic heart // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2002. – V. 34. – P. 1099–1109

128. *Dyck J.R., Lopaschuk G.D.* AMPK alterations in cardiac physiology and pathology: enemy or ally? // *J. Physiol.* – 2006. – V. 574. P. 95–112.
129. *Dzeja P.P., Zeleznikar R.J., Goldberg N.D.* Adenylate kinase: kinetic behavior in intact cells indicates it is integral to multiple cellular processes // *Mol. Cell. Biochem.* – 1998. – V. 184. – P. 169–182.
130. *Endres M.* Statins: potential new indications in inflammatory conditions // *Atheroscler. Suppl.* – 2006. – V. 7. – № 1. – P. 31–35.
131. *Essop M.F., Camp H.S., Choi C.S., Sharma S. et al.* Reduced heart size and increased myocardial fuel substrate oxidation in ACC2 mutant mice // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2008. – V. 295. – № 1. – P. H256–H265.
132. *Ferrari R.* The role of mitochondria in ischemic heart disease // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1996. – V. 28. – P. 1–10.
133. *Finck B.N., Lehman J.J., Leone T.C., Welch M.J. et al.* The cardiac phenotype induced by PPARalpha overexpression mimics that caused by diabetes mellitus // *J. Clin. Invest.* – 2002. – V. 109. – P. 121–130.
134. *Finck B.N., Kelly D.P.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease // *Circulation.* – 2007. – V. 115. – P. 2540–2548.
135. *Folmes C.D., Clanachan A.S., Lopaschuk G.D.* Fatty acid oxidation inhibitors in the management of chronic complications of atherosclerosis // *Curr. Atheroscler. Rep.* – 2005. – V. 7. – P. 63–70.
136. *Folmes C.D., Lopaschuk G.D.* Role of malonyl-CoA in heart disease and the hypothalamic control of obesity // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – V. 73. – P. 278–287.
137. *Folmes C.D., Sowah D., Clanachan A.S., Lopaschuk G.D.* High rates of residual fatty acid oxidation during mild ischemia decrease cardiac work and efficiency // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2009. – V. 47. – P. 142–148.
138. *Fontaine E., Eriksson O., Ichas F., Bernardi P.* Regulation of the permeability transition pore in skeletal muscle mitochondria. Modulation by electron flow through the respiratory chain complex I // *J. Biol. Chem.* – 1998. – V. 273. – № 20. – P. 12662–12668.
139. *Fukuda S.* Angiogenic signal triggered by ischemic stress induced myocardial repair in rat during chronic infarction // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2004. – V. 36. – № 4. – P. 547–59.

140. *Fukuhara A.*, Matsuda M., Nishizawa M., Segawa K. et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin // *Science*. – 2005. – V. 307. – P. 426–430.
141. *Garcia-Palmer F.J.* Lack of functional assembly in mitochondrial supercomplexes: a new insight into impaired mitochondrial function? // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – V. 80. – P. 3–4.
142. *Carley A.N.*, Atkinson L.L., Bonen A., Harper M.E. et al. Mechanisms responsible for enhanced fatty acid utilization by perfused hearts from type 2 diabetic db/db mice // *Arch. Physiol. Biochem.* – 2007. – V. 113. – P. 65–75.
143. *Carley A.N.*, Severson D.L. Fatty acid metabolism is enhanced in type 2 diabetic hearts // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2005. – V. 1734. – P. 112–126.
144. *Goldberg I.G.*, Eckel R.H., Abumrad N.A. Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase- and CD36-mediated pathways // *J. Lipid Res.* – 2008. – V. 50. – P. S86–S90.
145. *Gonon A.T.*, Widegren U., Bulhak A., Salehzadeh F. et al. Adiponectin protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK, Akt and nitric oxide // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – V. 78. – P. 116–122.
146. *Goodwin G.W.*, Taegtmeyer H. Regulation of fatty acid oxidation of the heart by MCD and ACC during contractile stimulation // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 1999. – V. 277. – P. E772–E777.
147. *Graham T.E.*, Yang Q., Bluher M., Hammarstedt A. et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – V. 354. – P. 2552–2563.
148. *Griffiths E. J.*, Halestrap A. P. Further evidence that cyclosporine A protects mitochondria from calcium overload by inhibiting a matrix peptidyl-prolyl cis-trans isomerase // *Biochem. J.* – 1991. – № 274. – P. 611–614.
149. *Griffiths E.J.*, Halestrap A.P. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischemia, but open upon reperfusion // *Biochem. J.* – 1995. – № 307. – P. 93–98.
150. *Grynberg A.* The role of lipids in the metabolism of the heart muscle // *Medicography.* – 1999. – V. 21. – № 2. – P. 29–35.
151. *Guo Z.*, Xia Z., Yuen V.G., McNeill J.H. Cardiac expression of adiponectin and its receptors in streptozotocin-induced diabetic rats // *Metabolism.* – 2007. – V. 56. – P. 1363–1371.

152. *Hafstad A.D., Khalid A.M., How O.J., Larsen T.S., Aasum E.* Glucose and insulin improve cardiac efficiency and postischemic functional recovery in perfused hearts from type 2 diabetic (db/db) mice // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2007. – V. 292. – P. E1288–E1294.
153. *Hafstad A.D., Solevag G.H., Severson D.L., Larsen T.S., Aasum E.* Perfused hearts from type 2 diabetic (db/db) mice show metabolic responsiveness to insulin // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – V. 290. – P. H1763–H1769.
154. *Hajri T., Abumrad N.A.* Fatty acid transport across membranes: relevance to nutrition and metabolic pathology // *Annu. Rev. Nutr.* – 2002. – V. 22. – P. 383–415.
155. *Halestrap A. P.* Calcium-dependent opening of a non-specific pore in the mitochondrial inner membrane is inhibited at pH values below 7 // *Biochem. J.* – 1991. – № 278. – P. 715–719.
156. *Halestrap A.P., Clarke S.J., Javadov S.A.* Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – a target for cardioprotection // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – № 61. – P. 372–385.
157. *Halestrap A.P., Pasdois P.* The role of the mitochondrial permeability transition pore in heart disease // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – V. 1787. – № 11. – P. 1402–1415.
158. *Hammer S., van der Meer R.W., Lamb H.J., Schar M. et al.* Progressive caloric restriction induces dose-dependent changes in myocardial triglyceride content and diastolic function in healthy men // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2008. – V. 93. – P. 497–503.
159. *Hardie D.G.* AMP-activated protein kinase: the guardian of cardiac energy status // *J. Clin. Invest.* – 2004. – V. 114. P. 465–468.
160. *Hardie D.G.* AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2007. – V. 8. – P. 774–785.
161. *He W., Miao F.J.–P., Lin D.C.–H., Schwandner R.T. et al.* Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors // *Nature.* – 2004. – V. 429. – P. 188–193.
162. *Heather L.C., Cole M.A., Lygate C.A., Evans R.D. et al.* Fatty acid transporter levels and palmitate oxidation rate correlate with ejection fraction in the infarcted rat heart // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – V. 72. – P. 430–437.

163. *Herrero P.*, Peterson L.R., McGill J.B., Matthew S. et al. Increased myocardial fatty acid metabolism in patients with type 1 diabetes mellitus // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2006. – V. 47. – P. 598–604.
164. *Hinkle P.C.* P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2005. – V. 1706. – P. 1–11.
165. *Holubarsch C.J.*, Rohrbach M., Karrasch M., Boehm E. et al. A double-blind randomized multicentre clinical trial to evaluate the efficacy and safety of two doses of etomoxir in comparison with placebo in patients with moderate congestive heart failure: the ERGO (etomoxir for the recovery of glucose oxidation) study // *Clin. Sci.* – 2007. – V. 113. – № 4. – P. 205–212.
166. *Hopkins T.A.*, Sugden M.C., Holness M.J., Kozak R. et al. Control of cardiac pyruvate dehydrogenase activity in peroxisome proliferator-activated receptor- α transgenic mice // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – V. 285. – P. 270–276.
167. *Huss J.M.*, Kelly D.P. Nuclear receptor signaling and cardiac energetic // *Circ. Res.* – 2004. – V. 95. – P. 568–578.
168. *Huss J.M.*, Kelly D.R. Mitochondrial energy metabolism in heart failure: a question of balance // *Clin. Invest.* – 2005. – V. 115. – № 3. – P. 547–555.
169. *Iacobellis G.*, Barbaro G. The double role of epicardial adipose tissue as pro- and anti-inflammatory organ // *Horm. Metab. Res.* – 2008. – V. 40. – P. 442–445.
170. *Idell-Wenger J.A.*, Grotyohann L.W., Neely J.R. Coenzyme A and carnitine distribution in normal and ischemic hearts // *J. Biol. Chem.* – 1978. – V. 253. – P. 4310–4318.
171. *Jaswal J.S.*, Gandhi M., Finegan B.A., Dyck J.R., Clanachan A.S. Effects of adenosine on myocardial glucose and palmitate metabolism after transient ischemia: role of 5'-AMP-activated protein kinase // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – V. 291. – P. H1883–H1892.
172. *Jaswal J.S.*, Gandhi M., Finegan B.A., Dyck J.R., Clanachan A.S. Inhibition of p38 MAPK and AMPK restores adenosine-induced cardioprotection in hearts stressed by antecedent ischemia by glucose utilization // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2007. – V. 293. – P. H1107–H1114.
173. *Jaswal J.S.*, Lopaschuk G.D. Partial inhibition of fatty acid β -oxidation with trimetazidine: a novel approach to the treatment of ischemic heart disease // *Arch. Med. Sci.* – 2007. – V. 3. – P. 1–9.

174. *Javadov S., Clarke S., Das M. et al.* Ischemic preconditioning inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores in the reperfused rat heart // *J. Physiol.* – 2003. – № 549.2. – P. 513–524.
175. *Javadov S., Karmazyn M., Escobales N.* Mitochondrial permeability transition pore opening as a promising therapeutic target in cardiac diseases // *J. Pharm. Exp. Therap.* – 2009. – V. 330. – № 3. – P. 670–678.
176. *Javadov S., Huang C., Kirshenbaum L. et al.* NHE-1 inhibition improves impaired mitochondrial permeability transition and respiratory function during postinfarction remodeling in the rat // *J. Moll. Cell. Cardiol.* – 2005. – № 38. – P. 135–143.
177. *Jennings R.B., Reimer K.A.* The cell biology of acute myocardial ischemia // *Annu. Rev. Med.* – 1991. – V. 42. – P. 225–246.
178. *Joshi S., Huang Y.G.* ATP synthase complex from bovine heart mitochondria: the oligomycin sensitivity conferring protein is essential for dicyclohexyl carbodiimide-sensitive ATPase // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1991. – V. 1067. – № 2. – P. 255–258.
179. *Joubert F., Hoerter J.A., Mazet J.L.* Modeling the energy transfer pathways. Creatine kinase activities and heterogeneous distribution of ADP in the perfused heart // *Mol. Biol. Rep.* – 2002. – № 29. – P. 177–182.
180. *Kaasik A., Veksler V., Boehm E. et al.* Energetic crosstalk between organelles: architectural integration of energy production and utilization // *Circ. Res.* – 2001. – V. 89. – P. 153–159.
181. *Kadenbach B.* Intrinsic and extrinsic uncoupling of oxidative phosphorylation // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – V. 1604. – P. 77–94.
182. *Kewalramani G., An D., Kim M.S., Ghosh S. et al.* AMPK control of myocardial fatty acid metabolism fluctuates with the intensity of insulin-deficient diabetes // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2007. – V. 42. – P. 333–342.
183. *King K.L., Young M.E., Kerner J., Huang H. et al.* Diabetes or peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist increases mitochondrial thioesterase I activity in heart // *J. Lipid. Res.* – 2007. – V. 48. – P. 1511–1517.
184. *Kondrashova M.N., Doliba N.M.* Polarographic observation of substrate-level phosphorylation and its stimulation by acetylcholine // *FEBS Lett.* – 1989. – V. 243. – P. 153–155.
185. *Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. et al.* Fatty acids as natural uncouplers preventing generation of $O(\cdot-)_2$ and H_2O_2 by mi-

- tochondria in the resting state // FEBS Lett. – 1998. – V. 435. – № 2–3. – P. 215–218.
186. Kuang M., Febbraio M., Wagg C., Lopaschuk G.D., Dyck J.R. Fatty acid translocase/CD36 deficiency does not energetically or functionally compromise hearts before or after ischemia // Circulation. – 2004. – V. 109. – P. 1550–1557.
187. Kudo N., Barr A.J., Barr R.L., Desai S., Lopaschuk G.D. High rates of fatty acid oxidation during reperfusion of ischemic hearts are associated with a decrease in malonyl-CoA levels due to an increase in 5'-AMP-activated protein kinase inhibition of acetyl-CoA carboxylase // J. Biol. Chem. – 1995. – V. 270. – P. 17513–17520.
188. Kudo N., Gillespie J.G., Kung L., Witters L.A. et al. Characterization of 5'AMP-activated protein kinase activity in the heart and its role in inhibiting acetyl-CoA carboxylase during reperfusion following ischemia // Biochim. Biophys. Acta. – 1996. – V. 1301. – P. 67–75.
189. Kudo N., Barr R., Lopaschuk G.D. 5' AMP-activated protein kinase inhibition of acetyl CoA carboxylase can explain the high rates of fatty acid oxidation in reperfused ischemic hearts // J. Biol. Chem. – 1995. – V. 270. – P. 17511–17520.
190. Kulinsky V.I., Olhovskiy I.A. Two adaptive strategies in adverse conditions - resistant and tolerant. The role of hormones and receptors // Achievements in modern biology. – № 5–6. – P. 697–714.
191. Lamb H.J., Smit J.W., van der Meer R.W., Hammer S. et al. Metabolic MRI of myocardial and hepatic triglyceride content in response to nutritional interventions // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2008. – V. 11. – P. 573–579.
192. Lavie C.J., Milani R.V. Obesity and cardiovascular disease: the Hippocrates paradox? // J. Am. Coll. Cardiol. – 2003. – V. 42. – P. 677–679.
193. Lavie C.J., Osman A.F., Milani R.V., Mehra M.R. Body composition and prognosis in chronic systolic heart failure: the obesity paradox // Am. J. Cardiol. – 2003. – V. 91. – P. 891–894.
194. Lee L., Campbell R., Scheuermann-Freestone M., Taylor R. et al. Metabolic modulation with perhexiline in chronic heart failure: a randomized, controlled trial of short-term use of a novel treatment // Circulation. – 2005. – V. 112. – P. 3280–3288.
195. Lee L., Horowitz J., Frenneaux M. Metabolic manipulation in ischaemic heart disease, a novel approach to treatment // Eur. Heart J. – 2004. – V. 25. – P. 634–641.

196. *Lemasters J.J.*, Theruvath T.P., Zhong Z. et al. Mitochondrial calcium and the permeability transition in cell death // *Biocim. Biophys. Acta.* – 2009. – V. 11. – № 1787. – P. 1395–1401.
197. *Leung A. W.*, Varanyuwatana P., Halestrap A. P. The mitochondrial phosphate carrier interacts with cyclophilin D and may play a key role in the permeability transition // *J. Biol. Chem.* – 2008. – № 283. – P. 26312–26323.
198. *Li J.*, Miller E.J., Ninomiya-Tsuji J., Russell R.R. 3rd., Young L.H. AMP-activated protein kinase activates p38 mitogen-activated protein kinase by increasing recruitment of p38 MAPK to TAB1 in the ischemic heart // *Circ. Res.* – 2005. – V. 97. – P. 872–879.
199. *Li L.*, Wu L., Wang C., Liu L., Zhao Y. Adiponectin modulates carnitine palmitoyltransferase-1 through AMPK signaling cascade in rat cardiomyocytes // *Regul. Pept.* – 2007. – V. 139. – P. 72–79.
200. *Li S.Y.*, Yang X., Ceylan-Isik A.F., Du M. et al. Cardiac contractile dysfunction in Lep/Lep obesity is accompanied by NADPH oxidase activation, oxidative modification of sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase and myosin heavy chain isozyme switch // *Diabetologia.* – 2006. – V. 49. – P. 1434–1446.
201. *Liao R.*, Jain M., Cui L. et al. Cardiac-specific overexpression of GLUT1 prevents the development of heart failure attributable to pressure overload in mice // *Circulation.* – 2002. – V. 106. – P. 2125–2131.
202. *Lindenfeld J.*, Masoudi F.A. Fluid retention with thiazolidinediones: does the mechanism influence the outcome? // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2007. – V. 49. – P. 1705–1707.
203. *Liu Q.*, Docherty J.C., Rendell J.C., Clanachan A.S., Lopaschuk G.D. High levels of fatty acids delay the recovery of intracellular pH and cardiac efficiency in post-ischemic hearts by inhibiting glucose oxidation // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2002. – V. 39. – P. 718–725.
204. *Liu Y.*, Fiskum G., Schubert D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain // *J. Neurochem.* – 2002. – V. 80. – P. 780–787.
205. *Lloyd S.G.*, Wang P., Zeng H., Chatham J.C. Impact of low-flow ischemia on substrate oxidation and glycolysis in the isolated perfused rat heart // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – V. 287. – P. H351–H362.
206. *Lopaschuk G.D.*, Barr R., Thomas P.D., Dyck J.R. 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. – V. 93. – P. e33–e37.
207. *Lopaschuk G.D., Folmes C.D., Stanley W.C.* Cardiac energy metabolism in obesity // *Circ. Res.* – 2007. – V. 101. – P. e335–e347.
208. *Lopaschuk G.D., Ussher J.R., Folmes C.D.L., Jaswal J.S., Stanley W.C.* Myocardial fatty acid metabolism in health and disease // *Physiol. Rev.* – 2010. – V. 90. – P. 207–258.
209. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – V. 193. – P. 265–275.
210. *Luiken J.J., Schaap F.G., van Nieuwenhoven F.A., van der Vusse G.J. et al.* Cellular fatty acid transport in heart and skeletal muscle as facilitated by proteins // *Lipids.* – 1999. – V. 34. – P. S169–S175.
211. *Luiken J.J., Coort S.L.M., Koonen D.P.Y., van der Horst D.J. et al.* Regulation of cardiac long-chain fatty acid and glucose uptake by translocation of substrate transporters // *Pflügers Arch.* – 2004. – V. 448. – P. 1–15.
212. *Lukyanova L.D., Dudchenko A.V., Germanova E.L. et al.* Mitochondrial signaling in formation of body resistance to hypoxia / In: Xi L., Serebrovskaya N.V. *Intermittent Hypoxia and Human Diseases.* – New York: Nova Science Publ. Inc., 2009. – P. 423–460.
213. *Lukyanova L.D., Germanova E.L., Kirova Yu.I.* The signal function of succinate and free radicals in mechanisms of preconditioning and long-term adaptation to hypoxia // *Adapt. Biol. Med.* – 2011. – V. 6. – P. 251–277.
214. *Martí Massó J. F.* Trimetazidine-induced parkinsonism // *Neurologia.* – 2004. – V. 19. – № 7. – P. 392–395.
215. *Madrazo J.A., Kelly D.P.* The PPAR trio: regulators of myocardial energy metabolism in health and disease // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2008. – V. 44. – P. 968–975.
216. *Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Oeltgen P.R. et al.* Activation of peripheral $\delta 2$ opioid receptors increases cardiac tolerance to ischemia/reperfusion injury: Involvement of protein kinase C, NO synthase, KATP channels and the autonomic nervous system // *Life Sci.* – 2009. – Vol. 84 – № 19–20. – P. 657–663.
217. *Masmoudi K., Gras-Champel V., Douadi Y., Masson H., Andréjak M.* Trimetazidine - a new aetiology for extrapyramidal disorders: A

- case of parkinsonism and akathisia // *Therapie.* – 2005. – V. 60. – № 6. – P. 603–605.
218. *McCarty M.F.* A shift in myocardial substrate, improved endothelial function, and diminished sympathetic activity may contribute to the anti-anginal impact of very-low-fat diets // *Med. Hypotheses.* – 2004. – V. 62. № 1. – P. 62–71.
219. *McNulty P.H.* Metabolic responsiveness to insulin in the diabetic heart // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – V. 290. – P. H1749–H1751.
220. *McVeigh J.J., Lopaschuk G.D.* Dichloroacetate stimulation of glucose oxidation improves recovery of ischemic rat hearts // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1990. – V. 259. – P. H1079–H1085.
221. *Mootha V.K., Arai A.A., Balaban R.S.* Maximum oxidative phosphorylation capacity of the mammalian heart // *Am. J. Physiol.* – 1997. – V. 272. – P. 69–775.
222. *Morgan E.E., Rennison J.H., Young M.E., McElfresh T.A. et al.* Effects of chronic activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α or high-fat feeding in a rat infarct model of heart failure // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – V. 290. – P. H1899–H1904.
223. *Morin D., Assaly R., Paradis S. et al.* Inhibition of mitochondrial membrane permeability as a putative pharmacological target for cardioprotection // *Curr. Med. Chem.* – 2009. – V. 16. – № 33. – P. 4382–4398.
224. *Mouquet F., Rousseau D., Domergue-Dupont V., Grynberg A., Liao R.* Effects of trimetazidine, a partial inhibitor of fatty acid oxidation, on ventricular function and survival after myocardial infarction and reperfusion in the rat // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2010. – V. 24. – № 4. – P. 469–76.
225. *Muoio D.M., Newgard C.B.* Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2008. – V. 9. – P. 193–205.
226. *Murphy M.P., Echtay K.S., Blaikie F.H. et al.* Superoxide activates uncoupling proteins by generating carbon-centered radicals and initiating lipid peroxidation: studies using a mitochondria-targeted spin trap derived from α -phenyl-N-tert-butyl nitron // *J. Biol. Chem.* 2003. – V. 278. – P. 48534–48545.
227. *Murray A.J., Panagia M., Hauton D., Gibbons G.F., Clarke K.* Plasma free fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor α

- pha in the control of myocardial uncoupling protein levels // *Diabetes*. – 2005. – V. 54. – P. 3496–3502.
228. *Nawata T., Takahashi N., Opie T.* Cardioprotection by streptozotocin-induced diabetes and insulin against ischemia/reperfusion injury in rats // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2002. – V. 40. – № 4. – P. 491–500.
229. *Neglia D., De Caterina A., Marraccini P., Natali A. et al.* Impaired myocardial metabolic reserve and substrate selection flexibility during stress in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2007. – V. 293. – P. H3270–H3278.
230. *Neubauer S.* The failing heart—an engine out of fuel // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – V. 356. – P. 1140–1151.
231. *Neubauer S., Horn M., Naumann A., Tian R. et al.* Impairment of energy metabolism in intact residual myocardium of rat hearts with chronic myocardial infarction // *J. Clin. Invest.* – 1995. – V. 92. – № 3. – P. 1092–1100.
232. *Nicholl T.A., Lopaschuk G.D., McNeill J.H.* Effects of free fatty acids and dichloroacetate on isolated working diabetic rat heart // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1991. – V. 261. – P. H1053–H1059.
233. *Nikolaidis L.A., Sturzu A., Stolarski C., Elahi D. et al.* The development of myocardial insulin resistance in conscious dogs with advanced dilated cardiomyopathy // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – V. 61. – P. 297–306.
234. *Nissen S.E., Wolski K.* Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – V. 356. – P. 2457–2471.
235. *Novgorodov S.A., Gudz T.I.* Permeability transition pore of the inner mitochondrial membrane can operate in two open states with different selectivities // *J. Bioenerg. Biomembr.* – 1996. – V. 28. – P. 139–146.
236. *O'Donnell J.M., Zampino M., Alpert N.M., Fasano M.J. et al.* Accelerated triacylglycerol turnover kinetics in hearts of diabetic rats include evidence for compartmented lipid storage // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2006. – V. 290. – P. E448–E455.
237. *Okere I.C., Chandler M.P., McElfresh T.A., Rennison J.H. et al.* Carnitine palmitoyl transferase-I inhibition is not associated with cardiac hypertrophy in rats fed a high-fat diet // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2007. – V. 34. P. 113–119.
238. *Oliveira P.J., Seica R., Coxito P.M. et al.* Enhanced permeability transition explains the reduced calcium uptake in cardiac mitochondria

- dria from streptozotocin-induced diabetic rats // FEBS Lett. – 2003. – № 554. – P. 511–514.
239. *Opie L.H.* The Heart: Physiology and Metabolism. – New York: Raven, 1991.
240. *Palanivel R.*, Fang X., Park M., Eguchi M. et al. Globular and full-length forms of adiponectin mediate specific changes in glucose and fatty acid uptake and metabolism in cardiomyocytes // Cardiovasc. Res. – 2007. – V. 75. – P. 148–157.
241. *Pallotti F.*, Lenaz G. Isolation and subfractionation of mitochondria from animal cells and tissue culture lines // Meth. Cell Biol. – 2009. – V. 65. – P. 1–35.
242. *Panagia M.*, Gibbons G.F., Radda G.K., Clarke K. PPAR-alpha activation required for decreased glucose uptake and increased susceptibility to injury during ischemia // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2005. – V. 288. – P. H2677–H2683.
243. *Panchal A.R.*, Comte B., Huang H., Dudar B. et al. Acute hibernation decreases myocardial pyruvate carboxylation and citrate release // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2001. – V. 281. – P. H1613–H1620.
244. *Patel M.S.*, Korotchikina L.G. Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex. Biochem. Soc. Trans. – 2006. – V.34. – P. 217–222.
245. *Parang P.*, Singh B., Arora R. Metabolic modulators for chronic cardiac ischemia // J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther. – 2005. – V. 10. – P. 217–223.
246. *Paulussen R.J.*, Jansen G.P., Veerkamp J.H. Fatty acid-binding capacity of cytosolic proteins of various rat tissues: effect of postnatal development, starvation, sex, clofibrate feeding and light cycle // Biochim. Biophys. Acta. – 1986. – V. 877. – P. 342–349.
247. *Perseghin G.*, Lattuada G., De Cobelli F., Esposito A. et al. Serum retinol-binding protein-4, leptin, adiponectin concentrations are related to ectopic fat accumulation // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2007. – V. 92. – P. 4883–4888
248. *Petersen K.F.*, Shulman G.I. Etiology of insulin resistance // Am. J. Med. – 2006. – V. 119. – P. S10–16.
249. *Peterson L.R.*, Herrero P., McGill J., Schechtman K.B. et al. Fatty acids and insulin modulate myocardial substrate metabolism in humans with type 1 diabetes // Diabetes. – 2008. – V. 57. – P. 32–40.
250. *Peterson L.R.*, Herrero P., Schechtman K.B., Racette S.B. et al. Effect of obesity and insulin resistance on myocardial substrate me-

- tabolism and efficiency in young women // *Circulation*. – 2004. – V. 109. – P 2191–2196.
251. *Phan J.* Reue K. Lipin, a lipodystrophy and obesity gene // *Cell. Metab.* – 2005. – V. 1. – P. 73–83.
252. *Prasad M.R.*, Clement R., Otani H., Jones R. et al. Improved myocardial performance induced by clofibrate during reperfusion after acute myocardial infarction // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1988. – V. 66. – P.1518–1523.
253. *Pulinilkunnil T.*, Abrahani A., Varghese J., Chan N. et al. Evidence for rapid “metabolic switching” through lipoprotein lipase occupation of endothelial-binding sites // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2003. – V. 35. – P. 1093–1103.
254. *Pulinilkunnil T.*, Rodrigues B. Cardiac lipoprotein lipase: metabolic basis for diabetic heart disease // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – V. 69. – P. 329–340.
255. *Qanud K.*, Mamdani M., Pepe M., Khairallah R.J. et al. Reverse changes in cardiac substrate oxidation in dogs recovering from heart failure // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2008. – V. 295. – P. H2098–H2105.
256. *Qi D.*, Pulinilkunnil T., An D., Ghosh S. et al. Single-dose dexamethasone induces whole-body insulin resistance and alters both cardiac fatty acid and carbohydrate metabolism // *Diabetes*. – 2004. – V. 53. – P. 1790–1797.
257. *Razeghi P.*, Young M.E., Alcorn J.L. et al. Metabolic gene expression in fetal and failing human heart // *Circulation*. – 2001. – V. 104. – P. 2923–2931.
258. *Remondino A.*, Rosenblatt-Velin N., Montessuit C., Tardy I. et al. Altered expression of proteins of metabolic regulation during remodeling of the left ventricle after myocardial infarction // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2000. – V. 32. – P. 2025–2034.
259. *Robergs R.A.*, Ghiasvand F., Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2004. – V. 287. – P. R502–R516.
260. *Rosca M.G.*, Vazquez E.J., Kerner J., Parland W. et al. Cardiac mitochondria in heart failure: decrease in respirasomes and oxidative phosphorylation // *Cardiovasc Res.* – 2008. – V. 80. – P. 30–39.
261. *Roth E.*, Oehler R. Hypothesis: muscular glutamine deficiency in sepsis – a necessary step for a hibernation-like state? // *Nutrition*. – 2010. – V. 26. – P. 571–574.

262. *Rousset S., Alves-Guerra M.C., Mozo J., Miroux B. et al.* The biology of mitochondrial uncoupling proteins // *Diabetes*. – 2004. – V. 53. – P. S130–S135.
263. *Ruiz-Meana M., Abellan A., Miro-Casas E. et al.* Role of sarcoplasmic reticulum in mitochondrial permeability transition and cardiomyocyte death during reperfusion // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – № 297. – P. 1281–1289.
264. *Russell R.R. 3rd., Li J., Coven D.L., Pypaert M. et al.* AMP-activated protein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents postischemic cardiac dysfunction, apoptosis, and injury // *J. Clin. Invest.* – 2004. – V. 114. – P. 495–503.
265. *Sabbah H.N., Sharov V., Riddle J.M. et al.* Mitochondrial abnormalities in myocardium of dogs with chronic heart failure // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1992. – V. 24. – P. 1333–1347.
266. *Saddik M., Lopaschuk G.D.* Myocardial triglyceride turnover and contribution to energy substrate utilization in isolated working rat hearts // *J. Biol. Chem.* – 1991. – V. 266. – P. 8162–8170.
267. *Saddik M., Gamble J., Witters L.A., Lopaschuk G.D.* Acetyl-CoA carboxylase regulation of fatty acid oxidation in the heart // *J. Biol. Chem.* – 1993. – V. 268. – P. 25836–25845.
268. *Saddik M., Lopaschuk G.D.* Triacylglycerol turnover in isolated working hearts of acutely diabetic rats // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1994. – V. 72. – P. 1110–1119.
269. *Saito Â., Castilho R.F.* Inhibitory effects of adenine nucleotides on brain mitochondrial permeability transition // *Neurochem. Res.* – 2010. – V. 35. – № 11. – P. 1667–1674.
270. *Sakamoto J., Barr R.L., Kavanagh K.M., Lopaschuk G.D.* Contribution of malonyl-CoA decarboxylase to the high fatty acid oxidation rates seen in the diabetic heart // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2000. – V. 278. – P. H1196–H1204.
271. *Saks V.A., Kaambre T., Sikk P. et al.* Intracellular energetic units in red muscle cells // *Biochem. J.* – 2001. – V. 356. – P. 643–657.
272. *Sambandam N., Morabito D., Wagg C., Finck B.N. et al.* Chronic activation of PPARalpha is detrimental to cardiac recovery after ischemia // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – V. 290. – P. H87–H95.
273. *Sambandam N., Steinmetz M., Chu A., Altarejos J.Y. et al.* Malonyl-CoA decarboxylase (MCD) is differentially regulated in subcellular

- compartments by 5'AMP-activated protein kinase (AMPK) // Eur. J. Biochem. – 2004. – V. 271. – P. 2831–2840.
274. *Schönfeld P.* Does the function of adenine nucleotide translocase in fatty acid uncoupling depend on the type of mitochondria? // FEBS Letters. – 1990. – V. 244. - № 2 – P. 246–248.
275. *Schoonjans K., Staels B., Grimaldi P., Auwerx J.* Acyl-CoA synthetase mRNA expression is controlled by fibric-acid derivatives, feeding and liver proliferation // Eur. J. Biochem. – 1993. – V. 216. – P. 615–622.
276. *Schulz H.* Oxidation of Fatty Acids in Eukaryotes. - Amsterdam: Elsevier, 2007. – P. 131–154.
277. *Schwenk R.W., Luiken J.J., Bonen A., Glatz J.F.* Regulation of sarcolemmal glucose and fatty acid transporters in cardiac disease // Cardiovasc. Res. – 2008. – V. 79. – P. 249–258.
278. *Semenza G.L.* Expression of hypoxia-inducible factor 1: mechanisms and consequences // Biochem. Pharmacol. – 2000. – V. 59. – № 1. – P. 47–53.
279. *Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine // Cell. – 2012. – V. 148. – № 3. – P. 399–408.
280. *Semenza G.L.* Oxygen sensing, homeostasis and disease // N. Engl. J. Med. – 2011. – V. 365. – № 6. – P. 537–547
281. *Sethi J.K., Vidal-Puig A.* Visfatin: the missing link between intra-abdominal obesity and diabetes? // Trends Mol. Med. – 2005. – V. 11. – P. 344–347.
282. *Sharov V.G., Todor A.V., Silverman N. et al.* Abnormal mitochondrial respiration in failed human myocardium // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2000. – V. 32. – P. 2361–2367.
283. *Sharov V.G., Todor A., Khanal S. et al.* Cyclosporine A attenuates mitochondrial permeability transition and improves mitochondrial respiratory function in cardiomyocytes isolated from dogs with heart failure // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2007. – № 42. – P. 150–158.
284. *Sharpe M.A., Cooper C.E., Wrigglesworth J.M.* Transport of K⁺ and cations across phospholipid membranes by nonesterified fatty acids // J. Membr. Biol. 1994. – V. 141. – P. 21–28.
285. *Shen X., Zheng S., Metreveli N.S., Epstein P.N.* Protection of cardiac mitochondria by overexpression of MnSOD reduces diabetic cardiomyopathy // Diabetes. – 2005. – V. 55. – P. 798–805.

286. *Shibata R.*, Ouchi N., Ito M., Kihara S. et al. Adiponectin-mediated modulation of hypertrophic signals in the heart // *Nat. Med.* – 2004. – V. 10. – P. 1384–1389.
287. *Shibata R.*, Sato K., Pimentel D.R., Takemura Y. et al. Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK- and COX-2-dependent mechanisms // *Nat. Med.* – 2005. – V. 11. – P. 1096–1103.
288. *Shier W.T.* Activation of high levels of endogenous phospholipase A₂ in cultured cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1979. – V. 76. – № 1. – P. 195–199.
289. *Schild L.*, Reinheckel T., Wiswedel I., Augustin W. Short-term impairment of energy production in isolated rat liver mitochondria by hypoxia/reoxygenation: involvement of oxidative protein modification // *Biochem. J.* – 1997. – V. 328. – P. 205–210.
290. *Shimizu J.*, Todaka K., Burkhoff D. Load dependence of ventricular performance explained by model of calcium-myofilament interactions // *Am. J. Physiol.* – 2002. – V. 282. – P. 1081–1091.
291. *Shinmura K.*, Tamaki K., Saito K., Nakano Y. et al. Cardioprotective effects of short-term caloric restriction are mediated by adiponectin via activation of AMP-activated protein kinase // *Circulation.* – 2007. – V. 116. – P. 2809–2817.
292. *Sidell R.J.*, Cole M.A., Draper N.J., Desrois M. et al. Thiazolidinedione treatment normalizes insulin resistance and ischemic injury in the Zucker Fatty rat heart // *Diabetes.* – 2002. – V. 51. – P. 1110–1117.
293. *Sivet J.*, de la Gastine B., Mosquet B., Lescure P., Boutemy J., Le Boisselier R., Coquerel A. Trimetazidine-induced encephalopathy with choreiform disorders: a case report // *Rev. Med. Interne.* – 2008. – V. 29. – № 6. – P. 512–515.
294. *Skulachev V.P.* Membrane-linked systems preventing superoxide formation // *Biosci. Reports.* – 1997. – V. 17. – № 3. – P. 347–366.
295. *Sokolova T.N.* The hypothesis of specific affinity of metabolic pathways inherent to onset of hibernation and reaction to critical stress stimuli // *J. Stress Physiol. Biochem.* – 2011. – V. 7. – № 4. – P. 268–291.
296. *Sommet A.*, Azaïs-Vuillemin C., Bagheri H., Rascol O., Montastruc J.L. Trimetazidine: a new cause for drug-induced parkinsonism? // *Movemet. Disorders.* – 2005. – V. 20. – № 8. – P. 1080–1081.

297. *Son N.H., Park T.S., Yamashita H., Yokoyama M. et al.* Cardiomyocyte expression of PPARgamma leads to cardiac dysfunction in mice // *J. Clin. Invest.* – 2007. – V. 117. – P. 2791–2801.
298. *Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D.* Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart // *Physiol. Rev.* – 2005. – V. 85. – P.1093–1129.
299. *Steppan C.M., Lazar M.A.* Resistin and obesity-associated insulin resistance // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2002. – V. 13. – P. 18–23.
300. *Stroka D.M., Burkhardt T., Desballerts I.* HIF-1 is expressed in normoxia tissue and displays an organ-specific regulation under systemic hypoxia // *The FASEB J.* – 2001. – V. 15. – P. 2445–2453.
301. *Su X., Abumrad N.A.* Cellular fatty acid uptake: a pathway under construction // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2009. – V. 20. – P.72–77.
302. *Summers S.A.* Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity // *Prog. Lipid Res.* – 2006. – V. 45. – P. 42–72.
303. *Tao L., Gao E., Jiao X. Yuan Y. et al.* Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrative stress// *Circulation.* – 2007. – V. 115. – P. 1408–1416.
304. *Taegtmeyer H.* Switching metabolic genes to build a better heart // *Circulation.* – 2002. – V. 106. – P. 2043–2045.
305. *Tuunanen H., Engblom E., Naum A., Nagren K. et al.* Trimetazidine, a metabolic modulator, has cardiac and extracardiac benefits in idiopathic dilated cardiomyopathy // *Circulation.* – 2008. – V. 118. – P. 1250–1258.
306. *Ussher J.R., Koves T.R., Jaswal J.S., Zhang L. et al.* Insulin-stimulated cardiac glucose oxidation is increased in high-fat diet-induced obese mice lacking malonyl CoA decarboxylase // *Diabetes.* – 2009. – V. 58. – P. 1766–1775.
307. *Ussher J.R., Lopaschuk G.D.* Clinical implications of energetic problems in cardiovascular disease // *Heart Metabolism.* – 2006. – V. 32. – P. 9–17.
308. *Ussher J.R., Lopaschuk G.D.* Targeting malonyl CoA inhibition of mitochondrial fatty acid uptake as an approach to treat cardiac ischemia/reperfusion // *Basic. Res. Cardiol.* – 2009. – V. 104. – P. 203–210.
309. *Ussher J.R., Lopaschuk G.D.* The malonyl CoA axis as a potential target for treating ischaemic heart disease // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – V. 79. – P. 259–268.

310. *Waki H.*, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue // *Annu. Rev. Pathol.* – 2007. – V. 2. – P. 31–56.
311. *Wang P.*, Fraser H., Lloyd S.G., McVeigh J.J. et al. A comparison between ranolazine and CVT-4325, a novel inhibitor of fatty acid oxidation, on cardiac metabolism and left ventricular function in rat isolated perfused heart during ischemia and reperfusion // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2007. – V. 321. P. 213–220.
312. *Wang P.*, Lloyd S.G., Zeng H., Bonen A., Chatham J.C. Impact of altered substrate utilization on cardiac function in isolated hearts from Zucker diabetic fatty rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – V. 288. – P. H2102–H2110.
313. *Wang Y.X.*, Lee C.H., Tiep S., Yu R.T. et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity // *Cell.* – 2003. – V. 113. – P. 159–170.
314. *Wayman N.S.*, Hattori Y., McDonald M.C., Mota-Filipe H. et al. Ligands of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR-gamma and PPAR-alpha) reduce myocardial infarct size // *FASEB J.* – 2002. – V. 16. – P. 1027–1040.
315. *Weglicki W.B.*, Owens K., Urshel C.W., Serur R.J., Sonnenblick E.H. Hydrolysis of myocardial lipids during acidosis and ischemia // *Recent Adv. Stud. Cardiac Struct. Metab.* – 1973. – V. 3. – P. 781–793.
316. *Weiss R.G.*, Gerstenblith G., Bottomley P.F. ATP flux through creatine kinase in the normal, stressed, and failing human heart // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2005. – V. 102. – P. 808–813.
317. *Weiss J.*, Hiltbrand B. Functional compartmentation of glycolytic versus oxidative metabolism in isolated rabbit heart // *J. Clin. Invest.* – 1985. – V. 75. – P. 176–181.
318. *Wieckowski M.R.*, Wojtczak L. Fatty acid-induced uncoupling of oxidative phosphorylation is partly due to opening of the mitochondrial permeability transition pore // *FEBS Lett.* – 1998. – V. 423. – P. 339.
319. *Wisneski J.A.*, Gertz E.W., Neese R.A., Mayer M. Myocardial metabolism of free fatty acids. Studies with ¹⁴C-labeled substrates in humans // *J. Clin. Invest.* – 1987. – V. 79. – P. 359–366.
320. *Van der Vusse G.J.*, Reneman R.S., Van Bilsen M. Accumulation of arachidonic acid in ischemic/reperfused cardiac tissue: possible causes and consequences // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 1997. – V. 57. – P. 85–93.

321. *Van der Vusse G.J., van Bilsen M., Glatz J.F.* Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease // *Cardiovasc. Res.* – 2000. – V. 45. – P. 279–293.
322. *Ventura-Clapier R., Garnier A., Veksler V.* Energy metabolism in heart failure // *J. Physiol.* – 2004. – V. 555. - № 1. – P. 1–13.
323. *Xin X., Yang S., Kowalski J., Gerritsen M.E.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands are potent inhibitors of angiogenesis in vitro and in vivo // *J. Biol. Chem.* – 1999. – V. 274. – P. 9116–9121.
324. *Yang J., Sambandam N., Han X., Gross R.W. et al.* CD36 deficiency rescues lipotoxic cardiomyopathy // *Circ. Res.* – 2007. – V. 100. – P. 1208–1217.
325. *Yang Q., Li Y.* Roles of PPARs on regulating myocardial energy and lipid homeostasis // *J. Mol. Med.* – 2007. – V. 85. – P. 697–706.
326. *Yellon D.M., Baxter G.F.* A «second window of protection» or delayed preconditioning phenomenon: future horizons for myocardial protection? // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* – 1995. – V. 27. – P. 1023–1034.
327. *Yue T.L., Bao W., Gu J.L., Cui J. et al.* Rosiglitazone treatment in Zucker diabetic Fatty rats is associated with ameliorated cardiac insulin resistance and protection from ischemia/reperfusion-induced myocardial injury // *Diabetes.* – 2005. – V. 54. – P. 554–562.
328. *Zhang J.* Myocardial energetics in cardiac hypertrophy // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2002. – V. 29. – P. 351–359.
329. *Zhang M., Mileykovskaya E., Dowhan W.* Gluing the respiratory chain together. Cardiolipin is required for supercomplex formation in the inner mitochondrial membrane // *J. Biol. Chem.* – 2002. – V. 277. – P. 43553–43556.
330. *Zhang M., Mileykovskaya E., Dowhan W.* Cardiolipin is essential for organization of complexes III and IV into a supercomplex in intact yeast mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2005. – V. 280. – P. 29403–29408.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	3
Введение.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ. ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ	9
Механизмы срочной адаптации. Роль митохондрий	11
Функция митохондрий в клетке при адаптации к гипоксии	13
Роль митохондрий в формировании механизмов долгосрочной адаптации.....	17
ГЛАВА 2. ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА СЕРДЦА	19
ГЛАВА 3. СТРУКТУРНЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕРДЦЕ ПРИ НЕДОСТАТОЧНОМ ПОСТУПЛЕНИИ КИСЛОРОДА.....	23
ГЛАВА 4. ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ – ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ МЕТАБОЛИЗМА МИОКАРДА.....	30
Метаболизм жирных кислот в сердце: ключевые процессы	31
Влияние ишемии на метаболизм жирных кислот	36
Сердечная недостаточность и метаболизм жирных кислот	38
Метаболизм жирных кислот при ожирении и сахарном диабете	40
Липотоксичность сердца: спорные вопросы.....	44
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ. МЕХАНИЗМЫ РАЗОБЩАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ.....	47

ГЛАВА 6. МОДУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЖИРНЫХ КИСЛОТ КАК ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОДХОД	51
Антилипидимические средства	51
Тиазолидиндионы	54
Ингибиторы поглощения и окисления жирных кислот в митохондриях	55
ГЛАВА 7. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ СЕРДЦА.....	59
Моделирование экспериментального инфаркта миокарда	61
Моделирование сахарного диабета.....	62
Моделирование сочетанной патологии	62
Получение изолированных кардиомиоцитов.....	62
ГЛАВА 8. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИОКАРДА ЖИВОТНЫХ	69
ГЛАВА 9. РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПОДДЕРЖАНИИ МЕМБРАННОГО ГОМЕОСТАЗА КЛЕТОК СЕРДЦА ПРИ ИШЕМИИ МИОКАРДА	82
Влияние жирных кислот на скорость поглощения кислорода митохондриями сердца	82
Влияние жирных кислот на поглощение кислорода изолированными кардиомиоцитами	90
Механизмы разобщающего действия жирных кислот как адаптивная защита сердца	95
Оценка эффективности аэробного и анаэробного процессов энергообразования по активности ферментов в кардиомиоцитах	101
Сравнительный анализ выраженности стресс-реакции по изменению гормонального статуса крыс	106
Заключение.....	112
Литература.....	115

Научное издание

Авторы:

Михаил Андреевич Медведев,
Маргарита Владимировна Егорова,
Сергей Александрович Афанасьев,
Дина Степановна Кондратьева,
Татьяна Юрьевна Реброва,
Ирина Владимировна Суходоло

**РОЛЬ ЖИРНЫХ КИСЛОТ
В АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ
КАРДИОМИОЦИТОВ**

Редактор А.Ю. Коломийцев
Технический редактор О.В. Коломийцева
Обложка Л.Д. Кривцова

Издательство СибГМУ
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107
тел. 8(3822) 51–41–53
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

Подписано в печать 05.07.18
Формат 60x84 $\frac{1}{16}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Гарнитура «Times». Печ.л. 9,1. Авт.л. 7,1.
Тираж 500 экз. Заказ №

Отпечатано в Издательстве СибГМУ
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2
E-mail: lab.poligrafii@ssmu.ru