

В.Г. Кукес¹, Н.И. Жернакова², Т.В. Горбач³, О.В. Ромащенко², В.В. Румбешт²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

² Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Российская Федерация

³ Харьковский государственный медицинский университет, Украина

Эффективность милдроната при экспериментальной ишемии миокарда у крыс разного возраста

При экспериментальной ишемии миокарда у 10-месячных крыс под действием милдроната обнаружили существенные изменения метаболизма кардиомиоцитов в виде стимуляции аэробных и анаэробных путей энергообеспечения клеток сердца: активации гликолиза, окислительно-го фосфорилирования и окислительного декарбоксилирования пирувата с восстановлением пула аденозинтрифосфата до уровня интактных крыс в гомогенате миокарда, сыворотке крови и эритроцитах, с признаками стабилизации мембран кардиомиоцитов и существенного снижения тканевой гипоксии. Введение милдроната старым крысам (24 мес) с экспериментальной ишемией миокарда сопровождалось менее выраженными изменениями метаболизма: активацией гликолиза и окислительного декарбоксилирования пирувата без стимуляции ферментов цикла Кребса, что оказалось достаточно для восстановления пула аденозинтрифосфата в миокарде, без изменения его содержания в сыворотке крови и эритроцитах, с признаками стабилизации мембран кардиомиоцитов и умеренного уменьшения степени тканевой гипоксии.

42

Ключевые слова: ишемия миокарда, кардиоцитопротекция, митохондрии, метаболическая терапия, милдронат, возраст.

Введение

Актуальность проблемы повышения эффективности лечения ишемической болезни сердца (ИБС) обусловлена значительно более высокими показателями распространенности и смертности от данной патологии в России по сравнению с европейскими странами и США [1, 2]. Современные стандарты лечения стенокардии — основной нозологической формы ИБС — предполагают использование медикаментозной терапии и интервенционных методов лечения, при этом лекарственная терапия составляет неотъемлемую часть любой программы лечения [3]. В случае недостаточной эффективности и/или при наличии противопоказаний к использованию

основных гемодинамических препаратов у пациентов со стенокардией Всероссийское научное общество кардиологов и ряд ученых рекомендуют назначать кардиоцитопротекторы, в частности, триметазидин и милдронат [3, 4]. При этом у зарубежных коллег и практических врачей имеются сомнения в отношении эффективности данной группы лекарственных средств [5]. Возможно, это связано с недопониманием тонких биохимических механизмов действия метаболических корректоров и/или с необходимостью индивидуального подхода к их назначению, учитывая ряд факторов, в т.ч. и возраст.

Цель исследования: изучить эффективность милдроната по показателям энергообмена в кардиомиоцитах при ишемии миокарда у крыс разного возраста.

V.G. Kukes¹, N.I. Zernakova², T.V. Gorbach³, O.V. Romashenko², V.V. Rumbesht²

¹ The First Moscow State Medical University named by I.M. Sechenov, Russian Federation

² Belgorod State National Research University, Russian Federation

³ Kharkov State Medical University, Ukraine

Efficiency of mildronate in rats of different age with experimental-induced myocardial ischemia

Under experimental myocardial ischemia in rats of 10 months treatment with mildronate resulted in essential changes in metabolism of cardiomyocytes. This includes stimulation of aerobic and anaerobic ways of power supply of heart cells: activation of glycolysis, oxidative phosphorylation and oxidative pyruvate decarboxylation with restoration of adenosine triphosphate pool to intact rats level in myocardium, serum and erythrocytes with signs of stabilization of cardiomyocytes membranes and essential decrease of tissue hypoxia. Introduction of mildronate to old rats (24 months) with an experimental myocardial ischemia was accompanied by lesser expressed changes of metabolism: activation of glycolysis and oxidative pyruvate decarboxylation without stimulation of Krebs' cycle enzymes. This became sufficient for restoration of adenosine triphosphate pool in myocardium without change of its quantity in serum and erythrocytes with signs of stabilization of cardiomyocytes membranes and moderate reduction of tissue hypoxia degree.

Key words: experimental myocardial ischemia, cardiocytoprotection, mitochondria, cells energy exchange, mildronate, age.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование проводили на 32 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 10 и 24 мес, которых содержали в стандартных условиях вивария. Использовали следующие группы животных:

- интактные крысы в возрасте 10 мес (n =6);
- интактные крысы в возрасте 24 мес (n =6);
- крысы с экспериментальной ИБС в возрасте 10 мес (n =5);
- крысы с экспериментальной ИБС в возрасте 24 мес (n =5);
- крысы с ИБС, которым вводили милдронат, в возрасте 10 мес (n =5);
- крысы с ИБС, которым вводили милдронат, в возрасте 24 мес (n =5).

Возрастные группы были выбраны из позиции соответствия 10-месячных крыс среднему возрасту человека (45–50 лет), 24-месячных крыс — пожилому возрасту человека (70–75 лет). Содержание животных и манипуляции над ними проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используют для экспериментальных целей (Страсбург, 1986).

Моделирование ИБС осуществляли по методу, описанному Д.В. Гаман (2011) [6]. Ежедневно в течение 7 дней крысам вводили подкожно 0,1 мл 0,1% раствора адреналина и 1 мл 2,5% эмульсии гидрокортизона. Дозу вводимого с терапевтической целью милдроната определили по формуле Ю.Р. Рыболовлева [7]: 0,03 мл/100 г массы тела животного в 1,5 мл 0,9% раствора NaCl внутривенно 1 раз в сутки, что эквивалентно рекомендованной дозе для человека (5 мл внутривенно 1 раз в сутки). Животных выводили из эксперимента через 10 дней после введения милдроната путем декапитации под легким тиопенталовым наркозом. Сердце перфузировали охлажденным 0,9% раствором NaCl. Приготовление гомогенатов миокарда и выделение митохондрий производили по методу, описанному Н.П. Мешковой и С.Е. Севериным [8]. Из гепаринизированной крови выделяли эритроциты центрифугированием. Отмытые эритроциты использовали для определения содержания 2,3 дифосфоглицерата (2,3 ДФГ) и свободных нуклеотидов (аденозинтри- и дифосфата — АТФ и АДФ) [9]. В сыворотке крови определяли содержание АТФ, АДФ, пирувата, лактата (с помощью набора реактивов фирмы «Ольвекс», Российская Федерация), сердечной фракции креатинфосфокиназы (КФК-МВ) с помощью наборов реактивов фирмы «НВР DAC-Spectro Med» (Кишинев, Молдова), активность лактатдегидрогеназы-1 (ЛДГ1) — с помощью наборов реактивов фирмы «Labsystem» (Финляндия) [10]. В митохондриях исследовали активность сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы и пируватдегидрогеназы [10]. В гомогенате миокарда определяли активность гексокиназы, креатинфосфокиназы, фосфофруктокиназы, уровень пирувата, лактата и АТФ [8, 10].

Полученные данные обрабатывали при помощи статистической программы SPSS for Windows 11. Применялся метод сравнения двух средних на основании t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1. При моделировании ишемии миокарда у крыс в возрасте 10 мес обнаружено достоверное повышение уровня

2,3-ДФГ в эритроцитах, снижение концентрации АТФ в эритроцитах, сыворотке крови и гомогенате миокарда, что свидетельствует о развитии тканевой гипоксии и энергодефицита. Обнаруженное увеличение активности органоспецифических миокардиальных ферментов — КФК-МВ и ЛДГ1 — в сыворотке крови связано с «утечкой» ферментов из цитоплазмы, по-видимому, вследствие дестабилизации мембран кардиомиоцитов. В митохондриях обнаружено достоверное снижение активности изучаемых ферментов сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы, пируватдегидрогеназы, что свидетельствует о снижении интенсивности окислительного фосфорилирования и окислительного декарбоксилирования пирувата и объясняет механизм возникновения энергодефицита при ишемии. В миокарде компенсаторно активируются гликолитические ферменты (гексокиназа и фосфофруктокиназа), а также фермент энергетического обмена (КФК) с целью обеспечения кардиомиоцитов энергией в условиях дефицита кислорода.

При сравнении интактных животных разных возрастных групп (10 и 24 мес) обнаружено достоверное снижение содержания АТФ ($664,54 \pm 14,49$ и $529,03 \pm 7,36$ мкмоль/л, соответственно, $p < 0,01$) и АДФ в эритроцитах ($315,11 \pm 8,78$ и $219,40 \pm 8,56$ мкмоль/л, соответственно, $p < 0,01$), АТФ в сыворотке крови ($200,08 \pm 3,47$ и $177,09 \pm 4,03$ мкмоль/л, соответственно, $p < 0,01$) и в гомогенате миокарда у старых крыс ($3,08 \pm 0,24$ и $2,03 \pm 0,09$ мкмоль/л, соответственно, $p < 0,01$), что может быть связано с достоверным угасанием активности митохондриальных ферментов сукцинатдегидрогеназы ($17,82 \pm 1,10$ и $10,46 \pm 0,44$ нмоль/мг в мин, соответственно, $p < 0,01$), цитратсинтазы ($3,94 \pm 0,23$ и $2,72 \pm 0,28$ нмоль/мг в мин, соответственно, $p < 0,01$), пируватдегидрогеназы ($31,04 \pm 0,89$ и $22,92 \pm 1,09$ мкмоль НАД/мг в мин, соответственно, $p < 0,01$), и, таким образом, со снижением интенсивности окислительно-восстановительных реакций. С возрастом также достоверно уменьшается захват лактата миокардом (как видно из данных табл. 1, снижается содержание лактата в миокарде и повышается в крови) и нарушается стабильность цитоплазматических мембран кардиомиоцитов, о чем свидетельствует появление органоспецифических ферментов в сыворотке крови (КФК-МВ и ЛДГ1) у старых крыс даже в интактном состоянии.

При моделировании ИБС у крыс в возрасте 24 мес направленность метаболических процессов оказалась такой же, как и у 10-месячных животных с экспериментальной ишемией миокарда, с явлениями усугубления метаболических нарушений, увеличения степени тканевой гипоксии и дестабилизации мембран кардиомиоцитов.

Введение милдроната 10-месячным крысам привело к достоверному повышению концентрации АТФ в сыворотке крови, эритроцитах и гомогенате миокарда практически до уровня интактных крыс, что свидетельствует об устранении энергодефицита, вызванного ишемией. Параллельно наблюдали достоверное снижение уровня 2,3-ДФГ в эритроцитах как признака существенного уменьшения степени тканевой гипоксии. В сыворотке крови обнаружили значительное снижение концентрации органоспецифических миокардиальных ферментов КФК-МВ и ЛДГ1, что говорит об уменьшении «утечки» ферментов из цитоплазмы клеток в результате стабилизации мембран кардиомиоцитов. В сыворотке крови обнаружили достоверное снижение концентрации пирувата, а в митохондриях — активацию пируватдегидрогеназы, что свидетельствует о стимуляции процесса окислительного декарбоксилирования пирувата.

Таблица 1. Показатели метаболизма миокарда у крыс 10 и 24 месяцев в норме, при экспериментальной ИБС и на фоне введения милдроната (M±m)

Показатели		Интактные крысы 10 мес, n=6	Крысы с ИБС 10 мес, n=5	Крысы с ИБС 10 мес + милдронат, n=5	Интактные крысы 24 мес, n=6	Крысы с ИБС 24 мес, n=5	Крысы с ИБС 24 мес + милдронат, n=5
Эритроциты	АТФ, мкмоль/л	664,54±14,49 ^{ΔΔ}	594,44±5,75 ^{**§}	638,88±14,96 ^Δ	529,03±7,36 ^{ΔΔ§§}	474,09±8,94 ^{**}	480,12±5,33 ^{**}
	АДФ, мкмоль/л	315,11±8,78	330,53±16,05	319,27±7,51	219,40±8,56 [§]	241,95±12,44	250,84±5,65 [*]
	2,3ДФГ, мкмоль/л	4,82±0,29 ^{ΔΔ§}	7,21±0,32 ^{**§§}	5,70±0,18 ^{*ΔΔ}	3,30±0,17 ^{ΔΔ§§}	5,92±0,16 ^{**§§}	4,68±0,22 ^{**ΔΔ}
Сыворотка крови	АТФ, мкмоль/л	200,08±3,47 ^{ΔΔ}	162,81±4,57 ^{**§§}	192,32±5,36 ^{ΔΔ}	177,09±4,03	166,99±4,46	167,29±2,03
	АДФ, мкмоль/л	75,92±1,58	79,31±1,13	77,33±2,29	87,31±1,43	87,51±2,69	83,25±1,46
	Пируват, мкмоль/л	58,59±2,26	59,95±1,02 [§]	53,44±1,99 ^Δ	62,75±1,70 ^{ΔΔ§}	52,06±1,43 ^{**§§}	68,44±0,67 ^{*ΔΔ}
	Лактат, мкмоль/л	0,50±0,03	0,62±0,14 ^{§§}	0,59±0,03	0,73±0,04 ^{ΔΔ§§}	0,99±0,03 ^{**§§}	0,10±0,00 ^{**ΔΔ}
	КФК-МВ, мккатол/л	0±0 ^{ΔΔ}	0,25±0,04 ^{**§§}	0±0 ^{ΔΔ}	0,09±0,01 ^{ΔΔ§§}	0,33±0,02 ^{**§§}	0,20±0,01 ^{**ΔΔ}
	ЛДГ ₁ , мккатол/л	0,02±0,00 ^{ΔΔ§§}	0,09±0,01 ^{**§§}	0,05±0,00 ^{**ΔΔ}	0,04±0,00 ^{ΔΔ}	0,11±0,00 ^{**}	0,21±0,13
Митохондрии	СДГ, нмоль/мг в мин	17,82±1,10 ^{ΔΔ§}	11,83±0,47 ^{**}	13,68±0,65 [*]	10,46±0,44 ^{ΔΔ§§}	7,74±0,21 ^{**}	7,52±0,33 ^{**}
	ЦС, нмоль/мг в мин	3,94±0,23 ^{ΔΔ§}	2,38±0,21 ^{**§}	3,12±0,10 ^{*Δ}	2,72±0,28 ^Δ	1,92±0,05 [*]	2,25±0,24
	ПДГ, мкмольНАД/мг в мин	31,04±0,89 ^{ΔΔ§§}	21,68±0,90 ^{**§§}	27,30±0,45 ^{**ΔΔ}	22,92±1,09 ^{Δ§}	19,51±0,66 ^{**§§}	26,76±0,94 ^{*ΔΔ}
Гомогенат миокарда	Гексокиназа, мкмоль/мг белка·час	27,38±1,20 ^{ΔΔ§}	36,22±0,54 ^{**}	32,30±1,72 [*]	27,91±0,76 ^{ΔΔ}	33,33±1,59 ^{**}	29,30±1,46
	КФК, мккатол/г белка в час	106,13±18,71	138,95±1,24 ^{§§}	122,12±1,82 ^{ΔΔ}	120,25±3,71 ^{§§}	129,21±7,62	138,98±4,22 ^{**}
	ФФК, нмоль/мг белка в час	12,97±0,54 ^{ΔΔ§§}	16,38±0,71 ^{**§}	18,87±0,71 ^{**Δ}	12,01±0,67 ^{ΔΔ§§}	19,47±0,40 ^{**}	16,71±1,15
	Пируват, мкмоль/г ткани	0,16±0,01	0,19±0,01	0,18±0,01	0,14±0,01 ^{§§}	0,14±0,00 ^{§§}	0,17±0,00 ^{**ΔΔ}
	Лактат, мкмоль/г ткани	3,10±0,34 ^{ΔΔ§§}	2,09±0,24 ^{§§}	4,48±0,19 ^{**ΔΔ}	2,60±0,22 ^{ΔΔ§§}	1,66±0,20 ^{**§§}	4,84±0,17 ^{**ΔΔ}
	АТФ, мкмоль/л	3,08±0,24 ^{ΔΔ}	1,18±0,08 ^{**§§}	3,16±0,09 ^{ΔΔ}	2,03±0,09 ^{ΔΔ}	1,06±0,03 ^{**§§}	2,30±0,17 ^{ΔΔ}

Примечание. АТФ – аденозинтрифосфат, АДФ – аденозиндифосфат, 2,3-ДФГ – 2,3-дифосфоглицерат, КФК-МВ – МВ-фракция креатинфосфокиназы, ЛДГ₁ – лактатдегидрогеназа (1 тип), СДГ – сукцинатдегидрогеназа, ЦС – цитратсинтаза, ПДГ – пируватдегидрогеназа, КФК – креатинфосфокиназа, ФФК – фосфофруктокиназа. Достоверность различий: *p<0,05; ** p<0,01 в сравнении с интактными крысами аналогичного возраста; ^Δ p<0,05; ^{ΔΔ} p<0,01 в сравнении с группой ИБС того же возраста; [§]p<0,05; ^{§§}p<0,01 в сравнении с группой ИБС+милдронат того же возраста.

В митохондриях также выявили достоверную активацию цитратсинтазы и незначительную активацию сукцинатдегидрогеназы. Полученные данные говорят о мягкой стимуляции процессов окислительного фосфорилирования, что, с одной стороны, обеспечивает клетку энергией, но, с другой, использует только тот кислород, который имеется в наличии, не повышая потребности к нему в условиях тканевой гипоксии. Можно сказать, что милдронат действует весьма гармонично, активируя аэробные процессы энергообеспечения кардиомиоцитов соответственно степени снижения тканевой гипоксии. Кроме того, установлены признаки активации анаэробных механизмов извлечения энергии из углеводов в виде стимуляции процесса гликолиза, о чем свидетельствует повышение активности фосфофруктокиназы, а также повышение захвата лактата миокардом. Таким образом, милдронат у крыс молодого возраста с ишемией миокарда активирует гликолиз, окислительное фосфорилирование и окислительное декарбоксилирование, стабилизирует мембраны кардиомиоцитов, существенно уменьшает степень гипоксии, вследствие

чего восстанавливается исходный уровень АТФ и осуществляется адекватное энергообеспечение миокарда.

У старых крыс с экспериментальной ишемией миокарда введение милдроната приводило к определенной метаболической коррекции с той же направленностью процесса, что и у молодых животных, но с несколько меньшей степенью выраженности. Так, концентрация АТФ восстанавливалась только в миокарде, а в сыворотке крови и эритроцитах не изменялась. Содержание 2,3-ДФГ в эритроцитах снижалось достоверно, но не до уровня интактных крыс соответствующего возраста, что свидетельствует об уменьшении степени гипоксии, но без полной ее ликвидации. Концентрация органоспецифических миокардиальных ферментов в сыворотке крови (КФК-МВ и ЛДГ₁) изменялась неоднаправленно: уровень КФК-МВ снижался достоверно, без достижения значений такового у интактных крыс, а уровень ЛДГ₁ достоверно повышался, что говорит об общей тенденции к стабилизации мембран кардиомиоцитов, но без полного восстановления целостности последних. Энергообеспечение миокарда под действием милдроната

у старых крыс менялось в сторону активации процессов гликолиза (существенное увеличение захвата лактата миокардом), окислительного декарбоксилирования пирувата (активация пируватдегидрогеназы митохондрий) и субстратного фосфорилирования (активация КФК миокарда) без дополнительной стимуляции окислительного фосфорилирования (отсутствие изменения активности митохондриальных ферментов цикла Кребса сукцинатдегидрогеназы и цитратсинтазы), что является весьма целесообразным и экономичным с точки зрения сбережения энергии в условиях нарастающей тканевой гипоксии в старости.

Анализ особенностей влияния милдроната на метаболизм кардиомиоцитов при экспериментальной ишемии миокарда у молодых и старых крыс приводит к мысли, как уже было сказано выше, об удивительной гармоничности изменений. Объяснением полученным данным может послужить механизм действия милдроната. Данный лекарственный препарат блокирует биосинтез карнитина из γ -бутиробетаина, вследствие чего возникает двойной позитивный эффект [11, 12]. Во-первых, уменьшается концентрации карнитина — переносчика жирных кислот через митохондриальные мембраны, что обуславливает кислородсберегающие эффекты препарата [11, 12]. Во-вторых, увеличивается концентрация γ -бутиробетаина, который раздражает ацетилхолиновые рецепторы и стимулирует биосинтез оксида азота (NO) — медиатора NO-эргической стресс-лимитирующей системы, универсального регулятора процесса адаптации [11–14]. В наших предыдущих клинических исследованиях была показана способность милдроната оказывать адаптогенный эффект через регуляцию биосинтеза NO [15]. Возможно, данный механизм вносит свой определенный вклад в реализацию столь эффективного влияния препарата на метаболизм кардиомиоцитов в условиях ишемии миокарда как у молодых, так и у старых крыс. Ограничение адаптационных возможностей клеток к восстановлению своих энергетических и пластических

ресурсов в старости обуславливает снижение возможностей милдроната корректировать метаболизм при ишемии миокарда у старых животных.

Заключение

Милдронат у крыс молодого возраста (10 мес) с ишемией миокарда активизирует гликолиз, окислительное фосфорилирование и окислительное декарбоксилирование пирувата, стабилизирует мембраны кардиомиоцитов, существенно уменьшает степень гипоксии, вследствие чего восстанавливается исходный уровень АТФ и осуществляется адекватное энергообеспечение миокарда.

Введение милдроната старым крысам (24 мес) с экспериментальной ишемией миокарда сопровождается менее выраженными изменениями метаболизма: активацией гликолиза и окислительного декарбоксилирования пирувата без стимуляции ферментов цикла Кребса, что является достаточным для восстановления пула АТФ в миокарде без изменения его содержания в сыворотке крови и эритроцитах, с признаками стабилизации мембран кардиомиоцитов и умеренного уменьшения степени тканевой гипоксии.

Милдронат весьма гармонично корректирует метаболизм кардиомиоцитов при экспериментальной ишемии миокарда с учетом исходного энергетического статуса, степени тканевой гипоксии и возраста животных.

Работа выполнена при поддержке гранта Белгородского государственного национального исследовательского университета: проект № 419112011 от 17 января 2012 г. «Клинико-фармакологические подходы к персонализации назначения препаратов метаболического ряда при лечении пациентов с ишемической болезнью сердца», выполняемый вузом в рамках государственного задания.

REFERENCES

1. Kharchenko V.I., Kakorina E.P., Koryakin M.V., Virin M.M., Sharapova G.A. *Problemy prognozirovaniya — Problems of Forecasting*. 2006; 12 (5): 138–151.
2. Ratmanova A. Cardiovascular morbidity and mortality — statistics of European countries (2008). *Medicine Review*. 2009; 6 (1): 6–12.
3. Diagnosis and treatment of stable angina. Russian recommendation (second revision) Developed by the Committee of Experts of the Russian Scientific Society of Cardiology. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika — Cardiovascular therapy and prevention*. 2008; 7 (8): 40.
4. Astashkin E.I. *Serdtse i metabolism — Heart and Metabolism*. 2008; 21: 1–3.
5. Mazur N.A. *Klinich. meditsina — Clinical. medicine*. 2007; 8: 19–25.
6. Gaman D.V., Konopenko M.I., Tyubka T.Yu. *Ukr. biofarmatsevticheskii zhurn. — Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2011; 10 (5): 16–20.
7. Rybolovlev Yu.R., Rybolovlev R.S. *Dokl. ANSSSR. — Reports of the Academy of Sciences USSR*. 1979; 6: 1513–1516.
8. *Praktikum po biokhimii [Practicum in biochemistry]*. Pod red. prof. N.P. Meshkovi, S.E. Severina [prof. N.P. Meshkova, S.E. Severina (editors)] Moscow; MGU. 1979. 485 s.
9. Mranova I.S. *Laboratornoe delo — Laboratory work*. 1975; 7: 652–654.
10. *Metody biokhicheskikh issledovaniy [Methods of biochemical research]*. Pod red. prof. M.I. Prokhorovi [prof. M.I. Prokhorova (editor)] Leningrad; LGU. 1982. 270 s.
11. Kalvin'sh I.Ya. Mildronat i mekhanizmy optimizatsii kletochno go proizvodstva energii v usloviyakh kislorodnogo golodaniya [Mildronat and mechanisms of optimizing cellular energy production under conditions of oxygen starvation.]. *Mat-ly III Mezhdunar. Simpoziuma «Tserebrokardial'naya patologiya — novoe v diagnostike i lechenii» [Proceedings of the III^d Int. Symp. «Cerebrocardial pathology — new in the diagnostics and treatment»]*. Sudak. 2001. S. 3–16.
12. Kalvin'sh I.Ya. Eksperim. i klinich. *Farmakoterapiya — Experimental and Clinical Pharmacotherapy*. 1991; 19: 7–14.
13. Malyshev I.Yu., Manukhina E.B. *Biokhimiya — Biochemistry*. 1998; 63 (7): 992–1006.
14. Manukhina E.B., Malyshev I.Yu. *Ros. fiziol. zhurn. im. I.M.Sechenova — I.M.Sechenov Russian Physiological Journal*. 2000; 86 (10): 1283–1292.
15. Geichenko V.P., Kuryata A.V., Muzhchil' (Romashchenko) O.V. *Serdechnaya nedostatochnost'. Mekhanizmy razvitiya, rol' narushenii metabolizma i adaptatsii, strategii lecheniya: Monografiya [Heart failure. Mechanisms of development, the role of metabolic disorders and adaptation, strategies of treatment: Monograph]* Dnepropetrovsk; Lira-LTD 2007. 216 s.

FOR CORRESPONDENCE

Kukes Vladimir Grigor'evich, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Medical Science, Head of Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Director of Institute of Clinical Pharmacology, Branch Director of «Clinical Pharmacology» Scientific Center of Biomedical Technologies of the Russian Academy of Medical Science

Address: 119048, Moscow, Trubetskaya St., 8

Zhernakova Nina Ivanovna, PhD, Professor, Dean of the Medical Faculty of Belgorod State National Research University

Address: 308015, Belgorod, Victory St., 85

Gorbach Tatiana Viktorovna, PhD, Associate Professor of Biochemistry, Kharkov State Medical University

Address: Ukraine, 61022, Kharkov, Lenin Avenue 4

Romashchenko Olesya Viktorovna, PhD, Associate Professor of Biochemistry and Pharmacology, Belgorod State National Research University

Address: 308015, Belgorod, Victory St., 85; **e-mail:** Romashenko@bsu.edu.ru

Rumbesht Vadim Valer'evich, PhD, Associate professor of Mathematical and Software information systems, Belgorod State National Research University

Address: 308015, Belgorod, Victory St., 85