

УДК 616.127:599.325

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204395-405>

Обзорная статья



Биохимические механизмы энергопротективного действия блокаторов медленных высокопороговых кальциевых каналов L-типа

В.В. Воробьева¹, О.С. Левченкова², П.Д. Шабанов¹¹ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;² Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия

В обзоре приведены сведения о структуре и функции кальциевых каналов плазматической мембраны и митохондрий сердца, фармакологические методы модуляции их проводимости. Представлены экспериментальные данные, характеризующие изменение энергетического обмена кардиомиоцитов на фоне трансформации проводимости кальциевых каналов L-типа клеточной мембраны в неинвазивной модели вибрационно-опосредованной (56 сеансов общей вертикальной вибрации, с частотой 44 Гц и амплитудой 0,5 мм) гипоксии.

Показано, что у животных, получавших на фоне вибрационного воздействия блокатор кальциевых каналов адонат (нифедипин INN), скорость эндогенного дыхания (V_3), измеренная полярографическим методом с помощью закрытого электрода Кларка в нативном гомогенате ткани миокарда кролика, сохранялась на уровне интактных животных и составила $16,3 \pm 4,3$ (нг · атом O) / мин · мг белка, амиталчувствительность повышалась на 39 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой вибрированных животных, малонатчувствительность уменьшалась на 40 % ($p < 0,05$). Динамика скорости субстратного дыхания ($V_{\text{як}}$ и $V_{\text{глу + мал}}$) в группе с адонатом возвращалась к показателю интактных животных, что свидетельствовало о восстановлении физиологического преобладания активности комплекса NADH – CoQ-редуктаза в окислительно-восстановительных реакциях. Выявлено, что блокада транспорта ионов Ca^{2+} на уровне высокопороговых (HVA) потенциалзависимых ионных каналов L-типа клеточной мембраны, нормализуя активность I фермент-субстратного комплекса дыхательной цепи и регуляторно сдерживая гиперактивность сукцинатдегидрогеназы в зоне II фермент-субстратного комплекса, оказывает энергопротективное действие. Адонат предупредил низкоэнергетический сдвиг и развитие биоэнергетической гипоксии в ткани миокарда экспериментальных животных.

Ключевые слова: митохондрии; высокопороговые (HVA) потенциалзависимые ионные каналы L-типа; сердечные каналопатии; модель вибрационно-опосредованной тканевой гипоксии; полярография; блокаторы кальциевых каналов; адонат; энергопротекция.

Как цитировать:

Воробьева В.В., Левченкова О.С., Шабанов П.Д. Биохимические механизмы энергопротективного действия блокаторов медленных высокопороговых кальциевых каналов L-типа // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2022. Т. 20. № 4. С. 395–405. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204395-405>

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204395-405>

Review Article

Biochemical mechanisms of the energy-protective action of blockers of slow high-threshold L-type calcium channels

Viktoriya V. Vorobieva¹, Olga S. Levchenkova², Petr D. Shabanov¹¹ Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;² Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

This review discusses information about the structure and function of calcium channels in the plasma membrane and mitochondria of the heart, and pharmacological methods for modulating their conductance. Experimental data are presented that characterize the change in the energy metabolism of cardiomyocytes against the background of the transformation of the conductivity of L-type calcium channels of the cell membrane in a non-invasive model of vibration-mediated (56 sessions of total vertical vibration, with a frequency of 44 Hz and an amplitude of 0.5 mm) hypoxia.

It was shown that in animals treated with calcium channel blocker adalat (nifedipine INN) against the background of vibration, the rate of endogenous respiration (V_o), measured by the polarographic method using a closed Clark electrode in native homogenate of rabbit myocardial tissue, remained at the level of intact animals and amounted to 16.3 ± 4.3 ng-O atom/min · mg of protein, amytal sensitivity increased by 39% ($p < 0.05$) compared to the group of vibrated animals, low-natality decreased by 40% ($p < 0.05$). The dynamics of the rate of substrate respiration (V_{ac} and $V_{glu + mal}$) in the group with adalat returned to that of intact animals, which indicated the restoration of the physiological predominance of the activity of the NADH – CoQ-reductase complex in redox reactions. It was found that the blockade of transport of Ca^{2+} ions at the level of high-threshold (HVA) voltage-dependent ion channels of the L-type of the cell membrane, normalizing the activity of the I enzyme-substrate complex of the respiratory chain and regulatoryly restraining the hyperactivity of succinate dehydrogenase in zone II of the enzyme-substrate complex, has an energy-protective effect. Adalat prevented a low-energy shift and the development of bioenergetic hypoxia in the myocardial tissue of experimental animals.

Keywords: mitochondria; high threshold (HVA) voltage-gated L-type ion channels; cardiac canalopathy; model of vibration-mediated tissue hypoxia; polarography; calcium channel blockers; adalat; energy protection.

To cite this article:

Vorobieva VV, Levchenkova OS, Shabanov PD. Biochemical mechanisms of the energy-protective action of blockers of slow high-threshold L-type calcium channels. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022;20(4):395–405. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204395-405>

Received: 13.11.2022

Accepted: 07.12.2022

Published: 30.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

Изучение связывания ионов металлов с мембранами привело к пониманию взаимосвязи между конформационными изменениями мембранных образований и их активностью [1]. Последовательное изучение структуры солей ионов, сил, определяющих способность катионов связываться с мембранами, распределение катионов между фазами, связывание катионов с белками и их конкуренция за связи, зависящая от метаболической активности клетки [1], кинетических и ферментных аспектов мембранного транспорта позволило накопить факты для осознания наличия в клетках системы селективных ионных каналов, подверженной физиологическим и фармакологическим регуляторным воздействиям.

Поскольку процессы транспорта ионов через каналы клеточной, митохондриальной мембраны и мембраны эндоплазматического ретикулаума носят преимущественно активный характер, важную роль в работе каналов играют процессы сопряжения (на переносчике, через изменение pH, транспорта ионов через мембранный потенциал) между синтезом и расходом клеточной энергии, между эффективностью работы ионных каналов и клеточным метаболизмом. Нарушение структурных субъединиц ионных каналов, например циклоспорин А-чувствительной митохондриальной поры (MPT — mitochondrial permeability transition), продемонстрированы в развитии таких патологий, как инфаркт миокарда, мышечная дистрофия, болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз, инсульт. Например, у пациентов, страдающих гипертонией, доказано снижение активности кальциевых аденозинтрифосфатсинтаз (АТФ) в гладких мышцах стенок кровеносных сосудов, что приводит к повышению содержания внутриклеточного кальция, вазоспазму и росту системного кровяного давления [2]. В числе причин поражения кальциевой АТФазы у гипертоников называют активацию процессов перекисного

окисления липидов (ПОЛ). Аналогичные патофизиологические механизмы, обусловленные активизацией ПОЛ и угнетением антиоксидантной системы [3], выявлены для пациентов с вибрационной болезнью [4]. В частности, установлено, что иницированная перекисью водорода хемилюминесценция сыворотки крови в группе пациентов с вибрационной болезнью в 3,5 раза превышала уровень контрольной группы. Наряду с нарушением процессов ПОЛ у таких больных наблюдаются изменения кальциевого гомеостаза [5] и, вероятно, нарушения энергозависимой функции ионных каналов. Подобные факты можно объяснить тем, что у лиц, длительно работающих в виброопасных условиях, частота сердечно-сосудистой патологии в 1,5–2,0 раза выше, чем в среднем по популяции, и проявляется в виде гипердинамии миокарда, диастолической дисфункции левого и правого желудочков, миокардиодистрофии в виде снижения ударного и минутного объемов кровообращения и фракции выброса, увеличении массы миокарда левого желудочка выше средних норм, ремоделировании миокарда [6]. Показано, что у лиц, страдающих вибрационной болезнью, в процессе электрокардиографического обследования выявлено увеличение интервала R–R, замедление сердечного ритма, расширение зубца P, снижение вольтажа, смещение зубца T, признаки нарушения проводимости с явлениями внутрисердечной, атриовентрикулярной и внутрисердечной блокад [6, 7].

Ионные каналы клетки представляют собой сложные белковые структуры с молекулярными системами открытия, закрытия, селективности, инактивации и регуляции. В мембране каждого кардиомиоцита располагаются около 100 тыс. ионных каналов [8]. Как и в любой биологической структуре, в ионном канале могут возникнуть функциональные дисфункции, но ионные нарушения могут быть связаны и с мутациями генов [9], кодирующих субъединицы каналов клеток сердца (см. таблицу). Например, синдром удлинённого интервала Q–T вследствие нарушения на уровне натриевых каналов сердца [10].

Таблица. Генетически детерминированные варианты кардиальной каналопатии синдрома удлинённого интервала Q–T

Синдром	Клинические варианты (типы)
Синдром удлинённого интервала Q–T	<p style="text-align: center;">Аутосомно-доминантный тип (синдром Романо – Уорда, распространённость 1 случай на 2500 человек), включающий подтипы LQT1–6 и LQT9–13 и характеризующийся изолированным удлинением интервала Q–T</p> <p style="text-align: center;">Аутосомно-доминантный тип с экстракардиальными проявлениями, который далее подразделяют на следующие подтипы:</p> <ul style="list-style-type: none"> • LQT7 (синдром Андерсена – Тавил), при котором удлинение Q–T сочетается с выраженной U-волной, полиморфной или двунаправленной желудочковой тахикардией, лицевым дисфорфизмом и гипер/гипокалиемическим периодическим параличом; • LQT8 (синдром Тимоти), для которого характерны удлинение Q–T, синдактилия, мальформации сердца, расстройства аутистического спектра и дисфорфизм <p style="text-align: center;">Аутосомно-рецессивный тип (синдром Джервелла – Ланге – Нильсена), для которого характерно очень выраженное удлинение интервала Q–T и врожденная глухота</p>

Выявлено пять генов, связанных с возникновением синдрома короткого интервала $Q-T$ (KCNH2, KCNQ1, KCNJ2, CACNA1C и CACNB2b), который характеризуется уменьшением продолжительности реполяризации миокарда и развитием угрожающих жизни аритмий. Заболевание отличается высокой летальностью в любом возрасте, в том числе у детей в первые месяцы жизни, и вероятность первой остановки сердца в возрасте 40 лет составляет более 40 %.

Распространенность синдрома Бругада, обусловленного мутацией гена α -субъединицы натриевого канала, формирующего натриевый ток Nav1.5 (кодируется геном SCN5A), колеблется от 1 случая на 1000 человек до 1 случая на 10 000 человек, и выше в странах Юго-Восточной Азии, чем в западных странах [11]. Клинические проявления заболевания чаще наблюдаются во взрослом возрасте и у мужчин (в восемь раз чаще, чем у женщин) в виде развития фибрилляции желудочков, обычно во время отдыха или во сне. Лихорадка, злоупотребление алкоголем и переизбыток становятся триггерными факторами, приводящими к появлению на ЭКГ изменений 1-го типа и предрасполагающими к фибрилляции желудочков. По данным последнего метаанализа, частота аритмических событий у больных синдромом Бругада составляет 13,5 % в год при наличии внезапной остановки сердца в анамнезе, 3,2 % в год — при наличии обмороков и 1 % в год — при отсутствии клинической симптоматики [11].

Катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия (КПЖТ) — редкое наследуемое аритмогенное заболевание с сопутствующей адренергической двунаправленной и полиморфной желудочковой тахикардией. Распространенность данного синдрома составляет 1 случай на 10 000 человек. Описано два генетических типа: доминантный генетический тип, вызываемый мутациями в гене сердечного рецептора рианодина (RyR2), и редкий рецессивный тип, вызываемый мутациями в гене сердечного кальсеквестрина (CASQ2) [12]. Заболевание обычно манифестирует в течение первого десятилетия жизни под влиянием физических и эмоциональных нагрузок.

Помимо вышеперечисленных причин, нарушения функций ионных каналов также могут вызывать аутоиммунные процессы, воздействие ряда физических факторов (гипертермия, электромагнитное, ионизирующее излучение), формирующие такой патофизиологический феномен, как гипоксия [13, 14].

Показано, что фармакологическая или генетическая модуляция проводимости ионных каналов повышает устойчивость организма к целому ряду патологий, тем самым обуславливая высокую актуальность дальнейших исследований структуры и функций ионных каналов и выявление механизмов регуляции и управления этими системами при различных заболеваниях.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ И МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА

Существует номенклатура кальциевых каналов, которая разделяет их на три структурно и функционально связанных семейства (CaV1, CaV2, CaV3), согласно которой L-тип кальциевого тока опосредуется CaV1-семейством α 1-субъединиц и регулируется фосфорилированием через систему протеинкиназ [15].

Разнообразие структуры и функции кальциевых каналов обусловлено подтипами β -субъединиц, которые связаны с α 1-субъединицей с внутриклеточной стороны мембраны и влияют на инактивацию канала. Четыре гена, кодирующие различные изоформы β -субъединиц, определяют кинетику и потенциал-зависимость воротного механизма ионного канала. Идентифицированы также гены, кодирующие α 2 β -субъединицы; выделена γ -субъединица, которая оказывает влияние на потенциал-зависимость воротного механизма.

В плазматической мембране кардиомиоцитов известны все основные ионные токи, обеспечивающие фазы сердечного потенциала действия (токи Na^+ , K^+ , Ca^{2+}). Среди шести типов Ca^{2+} каналов (L, N, P, Q, R и T) наибольшую функциональную нагрузку несут потенциал-управляемые каналы L- и T-типа, активирующиеся при деполяризации мембраны. В сердце наиболее широко распространены каналы L-типа, в синоатриальном узле они способствуют пейсмекерной активности [16], а в атрио-вентрикулярном узле — проведению импульсов через узел [17].

Транспорт и концентрация ионов кальция в клетке регулируется в основном четырьмя механизмами: саркоплазматической и сарколеммной Ca^{2+} -АТФазой [18], кальциевым митохондриальным унипортом и сарколеммным $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменником [19]. Натрий-кальциевый обменник транспортирует ионы $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ в соотношении 3/1 или 4/1. Вход ионов кальция в клетку во время потенциала действия ограничивается инактивацией Ca^{2+} -каналов L-типа, которая является кальцийзависимой и вызвана связыванием кальмодулина с C-концами белка Ca^{2+} -каналов [20, 21]

Разнообразные кальциевые каналы вместе с Ca^{2+} -регулирующими механизмами определяют уровень свободного кальция в миоплазме и имеют существенное значения для работы кардиомиоцитов [22–25]. Регуляция концентрации свободного кальция в цитоплазме осуществляется с помощью соответствующих белков: STIM (stromal interaction molecule), SERCA [кальциевая АТФаза эндо(сарко)плазматического ретикулума], IP3R (рецептор инозитол-1,4,5-трифосфата), Orai (белок, формирующий CRAC-каналы), TRPC (transient receptor potential canonical) и др. [22–25].

Хотя цитоплазматическая концентрация свободных ионов кальция мала, значительное количество кальция находится во внутриклеточных структурах. Запасенный в них кальций может высвобождаться в ответ на адекватные стимулы через каналы. В различных клетках описано большое количество структур, которые утилизируют внутриклеточный кальций, главными из которых являются гладкий эндоплазматический ретикулум и митохондрии, имеющие ряд идентифицированных к настоящему времени специфических, транспортирующих ионы кальция, структур.

Как известно, кальций, локализованный в митохондриях и связанный с мембранами через фосфолипиды (кардиолипиды), участвует в сокращении и реализации адренергического ответа миокарда. Митохондрии, и в частности митохондриальный Ca^{2+} -унипортер, белковый состав которого зависит от типа ткани, играют важную роль во внутриклеточной кинетике ионов кальция [26]. Макромолекулярная структура митохондриального Ca^{2+} -унипортера функционирует параллельно с эндоплазматическим ретикулумом благодаря наличию МАМ-контактов (мембраны, ассоциированные с митохондриями) [27, 28], в которых ионы кальция, высвобождаемые из эндоплазматического ретикулума, могут быть поглощены митохондриями. За освобождение ионов кальция из ретикулума в зону МАМ-контакта отвечают IP_3 -рецепторы (IP_3R — рецептор инозитол 1,4,5-трифосфата), после контакта с которыми Ca^{2+} свободно движется в митохондрии через VDAC-каналы (порин) внешней митохондриальной мембраны. Доказано, что вышедший из эндоплазматического ретикулума Ca^{2+} свободно проникает в митохондрии через VDAC-каналы благодаря функционированию белка-шаперона GRP75 (glucose-regulated protein 75), митофузину 2 (MFN2) и 8 белкам, содержащим домен PDZ (PDZ — domain-containing protein 8), которые физически связывают все компоненты системы входа кальция в клетку, их функциональное сопряжение, и работают в зависимости от их окислительно-восстановительного потенциала [29].

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ МОДУЛЯЦИИ ПРОВОДИМОСТИ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ

Фармакологические методы влияния связаны с использованием природных и синтетических соединений, модулирующих работу ионных каналов. Это могут быть токсины животных и растений, блокирующие работу канала или влияющие на воротные свойства канала, что позволяет выявить роль тех или иных структурных элементов канала в его функциях. Блокаторами кальциевых каналов являются многие двухвалентные катионы (ионы кобальта, никеля, кадмия и др.), производные дигидропиридинов, фенилалкиламинов, бензодиазепинов и ряд природных токсинов, таких как токсин морской

змеи *Conus Geographus* (ω -конотоксин GVIA), яд воронковых пауков, пептидный токсин FTX. Исходя из фармакологической классификации кальциевых каналов (L-, N-, T-каналы) дигидропиридиновые производные группы блокаторов кальциевых каналов действуют на высокопороговые (HVA) кальциевые каналы L-типа, общая функция которых — сопряжение возбуждения и сокращения в клетках миокарда [30]. Они активируются при высоких потенциалах на мембране (свыше 10 мВ), характеризуются высокой проводимостью и очень медленной кинетикой инактивации ($t < 500$ мс), регулируются G-белками [31, 32]. Оптимальное количество кальция — результат непрерывного взаимодействия энергозависимых процессов торможения и усиления транспорта ионов [2].

Доказано, что уменьшение избыточного накопления кальция с помощью лекарственных препаратов группы блокаторов кальциевых каналов предотвращает повреждение митохондрий и клеточных мембран во время гипоксии [33], приводит к вазодилатации и улучшению кровоснабжения тканей [34], антиаритмическому, антиангинальному [35], антиоксидантному, тормозящему ремоделирование миокарда и сосудов, действию [36], и может рассматриваться, как механизм, предупреждающий повреждение ткани в условиях неблагоприятного воздействия внешних факторов. Однако для изучения фармакологического влияния блокаторов кальциевых каналов на энергетический обмен сердца необходима соответствующая экспериментальная модель, воспроизводящая и гиперкальциемию, и гипоксию [13]. Несмотря на то что в последнее время были достигнуты значительные успехи в изучении пространственной структуры различных мембранных белков, ионных каналов, доступная на сегодняшний день информация о структуре и механизмах их функционирования ограничена и связана со сложностями проведения структурных и функциональных исследований биологических мембран. Поэтому сохраняется целесообразность использования экспериментальных моделей функционального характера, воспроизводящих фундаментальные патофизиологические феномены, как, например, гипоксию.

Энергетический обмен кардиомиоцита на фоне блокады кальциевых каналов L-типа клеточной мембраны в модели вибрационно-опосредованной биоэнергетической гипоксии

Основываясь на том, что хроническое вибрационное воздействие вызывает развитие тканевой гипоксии [13, 14, 37] и гиперкальциемии [15], для изучения активности кальциевых каналов фармакологическим методом была использована ранее опробованная модель вибрационно-опосредованной биоэнергетической гипоксии [13].

В ранее опубликованных авторами результатах экспериментального изучения [38] феномена вибрационного воздействия [13, 14] было показано, что с увеличением частоты (от 8 до 44 Гц) и длительности вибрации

(от 7, 21 до 56 сеансов) на уровне системы энергопродукции миокарда кроликов вклад активности комплекса NADH — CoQ-редуктаза [I комплекс дыхательной цепи (ДЦ)] в энергообеспечение ткани снижался, что согласуется с представлениями о большей его уязвимости [39]. Одновременно, активность FAD-зависимого фермент-субстратного комплекса (II комплекс ДЦ), шунтирующего часть электрон-транспортной цепи и обеспечивающего парциальные реакции ДЦ митохондрий с участием эндогенной и экзогенной янтарной кислоты *in vitro* [38], повышалась, свидетельствуя о его ведущей роли в поддержании энергетического обмена в неблагоприятных условиях внешней среды [39].

Пролонгация воздействия и накопление вибрационной дозы неизменно приводили к гиперактивации системы окисления янтарной кислоты, которая сопровождалась явлениями торможения и разобщения окислительно-фосфорилирования, свидетельствуя о формировании низкоэнергетического сдвига в системах энергообеспечения тканей. Подобная функциональная перестройка в ДЦ митохондрий в ответ на вибрацию [13, 14, 37] соответствует аналогичной картине «смены метаболических путей» на фоне других видов неблагоприятных воздействий [39]. Это позволило использовать режим вибрации с определенными характеристиками (56 сеансов, 44 Гц, 0,5 мм) в качестве неинвазивной модели [13], вызывающей митохондриальную дисфункцию и гипоксический тип клеточного метаболизма [13] для дальнейшего изучения биологического феномена гипоксии и возможностей фармакологической защиты от гипоксии различного генеза.

У животных, получавших такой блокатор кальциевых каналов, как адалат (международное название нифедипин), на протяжении 56 сеансов вибрации 44 Гц скорость эндогенного дыхания (V_3) оставалась на уровне интактных животных [$16,3 \pm 4,3$ (нг · атом O)/мин · мг белка], тогда как вклад парциальных реакций по данным ингибиторного анализа значительно изменялся (см. рисунок).

Амитаучувствительность повышалась на 39 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой вибрированных животных, малонатчувствительность уменьшалась на 40 % ($p < 0,05$), приближаясь к показателю интактных животных (см. рисунок, а). При этом коэффициент приращения скорости субстратного дыхания КП₃ (КП₃ = показатель малонатчувствительности в % / показатель амитаучувствительности в %) уменьшался на 56 %, что свидетельствовало о преобладании активности комплекса NADH – CoQ-редуктаза в окислительно-восстановительных реакциях, подобно активности у интактных животных. Скорость окисления композиции субстратов глутамат + малат ($V_{\text{глу+мал}}$) в состоянии «покоя» увеличивалась на 27 % и приближалась к показателю интактного контроля, тогда как в окислении экзогенной янтарной кислоты ($V_{\text{як}}$) наблюдали уменьшение гиперактивации и приближение к границе уровня показателей интактной группы [$34,3 \pm 7,6$ З (нг · атом O)/мин · мг белка] (см. рисунок, б).

Показатели скорости субстратного дыхания ($V_{\text{як}}$ и $V_{\text{глу+мал}}$) в группе блокаторов кальциевых каналов оказались выше скорости эндогенного дыхания, свидетельствуя об энергизирующем действии экзогенных субстратов («мягкие» условия инкубации гомогената), большей сохранности физиологической проницаемости мембран для субстратов, трансмембранной разности электрохимического потенциала ионов водорода ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$), способности ферментного комплекса окислять субстраты и готовности последующих участков ДЦ транспортировать электроны к кислороду [40, 41] по сравнению с животными без фармакологической защиты.

Коэффициент приращения скорости субстратного дыхания в состоянии «покоя» митохондрий КП_п (КП_п = $V_{\text{як}}/V_{\text{глу+мал}}$) снижался на 35 % (см. рисунок, б), приближаясь к показателю интактных животных (1,51), что свидетельствовало о сохранности I звена ДЦ при фармакологической защите, с одной стороны, и о регуляторном сдерживании гиперактивации

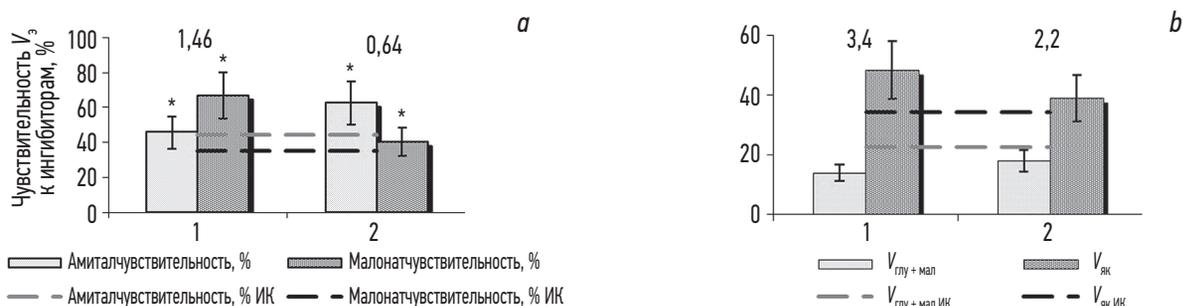


Рисунок. Влияние адалата на соотношение парциальных реакций эндогенного дыхания V_3 по данным ингибиторного анализа с амиталом и малонатом (а) и на скорость окисления NAD- и FAD-зависимых субстратов в состоянии «покоя» в (нг · атом O)/мин · мг белка по оси Y (б). 1 — вибрация; 2 — вибрация + адалат. Цифры возле столбиков диаграмм — коэффициенты приращения скорости субстратного дыхания по данным ингибиторного анализа (а) и коэффициент приращения скорости субстратного дыхания в состоянии «покоя» КП_п (б). ИК — интактный контроль; $V_{\text{глу+мал}}$ — скорость окисления композиции субстратов глутамат + малат; $V_{\text{як}}$ — скорость окисления экзогенной янтарной кислоты. Статистически значимые различия между группами 1 и 2: * $p < 0,05$.

сукцинатдегидрогеназы (СДГ) — с другой. Коэффициент приращения скорости субстратного дыхания в состоянии «активности» дыхательной цепи на фоне применения разобщителя (2,4-ДНФ) окислительного фосфорилирования $KП_p$ ($KП_p = V_{як\ p} / V_{глю + мал\ p}$) уменьшался на 33 %, оставаясь выше показателя интактного контроля (0,98) и указывая на отрегулированный режим работы СДГ-комплекса на фоне фармакологической защиты.

Однако в метаболическом состоянии «активности» скорость окисления экзогенных NAD-зависимых субстратов в тканях животных, получавших адалат, оставалась по-прежнему сниженной по сравнению с показателем интактных животных на 42 % ($p < 0,05$). Вышеизложенные факты подчеркивают необходимость обобщенного анализа совокупности кинетических и расчетных показателей ввиду структурной (белковой, кофакторной) и функциональной сложности организации фермент-субстратных комплексов ДЦ [42].

Механизмы энергопротективного действия блокаторов кальциевых каналов

Анализ зависимости между активностью медленных высокопороговых кальциевых каналов L-го типа клеточной мембраны и энергетическим обменом кардиомиоцита позволил выявить не только энергопротективные действия блокаторов кальциевых каналов, но и конкретные механизмы на уровне фермент-субстратных комплексов ДЦ. Известно, что ионы Ca^{2+} , избыточно поступающие в клетку через потенциалзависимые медленные кальциевые каналы, могут подавлять интенсивность дыхания в клетке, усиливать процесс гликолиза, уменьшать содержание АТФ, угнетать сопряжение окислительного фосфорилирования, активировать АТФ-потребляющие ферменты. Оценка совокупности кинетических параметров состояния митохондрий миокарда (V_z , $V_{як}$, $V_{глю + мал}$, $V_{як\ ДНФ}$, $V_{глю + мал\ ДНФ}$) и соотношения активности NAD- и FAD-зависимых фракций дыхательной цепи в разных метаболических состояниях митохондрий тканей на фоне воздействия вибрации и блокаторов кальциевых каналов свидетельствует, что блокада транспорта ионов Ca^{2+} в клетку на уровне потенциалзависимых ионных каналов L-типа клеточной мембраны оказывает положительное воздействие на энергетический метаболизм кардиомиоцитов, восстанавливая активность высокоорганизованного стехиометрически продуктивного [42] полиферментного комплекса NADH – CoQ-редуктаза [40]. Известно, что комплекс I ДЦ переносит $2H^+/e$, при этом энергия перепада окислительно-восстановительного потенциала протонов ($\Delta\mu_{H^+}$) запасается в виде трансмембранного потенциала $\Delta\psi$, который расходуется на синтез аденозин-5'-трифосфата при помощи протонной АТФазы митохондрий [40]. Активность и предположительная локализация АТФазы в структуре системы неспецифического выброса ионов кальция митохондриальной порой в качестве каналобразующего компонента внутренней мембраны митохондрий [2] указывает

на одну из многочисленных точек соприкосновения кальциевого и энергетического обменов.

Параллельно с восстановлением активности I пункта сопряжения окислительного фосфорилирования наблюдали регуляторное сдерживание активности СДГ (II) фермент-субстратного комплекса. Многокомпонентное устройство ДЦ, обеспечивающего высокую стехиометрию H^+/O , позволяет субстратам с большим положительным редокс-потенциалом, нежели у пары $NADH^+/NAD^+$ (–320 мВ), переносить восстановительные эквиваленты (сукцинат с редокс-потенциалом +30 мВ) сразу на II (СДГ-зависимый) участок ДЦ, в частности сукцинат (редокс-потенциал которого +30 мВ) [39]. К сожалению, этот путь окисления, шунтирующий часть основного потока электронов, не сопряжен с образованием высокоэнергетических потенциалов и теоретически эффективность окислительного фосфорилирования в зоне II фермент-субстратного комплекса в 1,5–2 раза ниже, чем в зоне I (NADH-зависимого) участка ДЦ [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Непрерывное взаимодействие энергозависимых процессов торможения и усиления транспорта ионов через клеточную мембрану в митохондрии ответственно за оптимальное количество кальция в клетке. Выявленная нами оптимизация работы I митохондриального комплекса, предполагаемая «минимизация» потребления O_2 и АТФазы миокардом на фоне применения блокатора кальциевых каналов явилось, на наш взгляд, важным элементом энергопротективного действия лекарственного препарата. Совокупность изменений, характеризующих метаболические состояния митохондрий миокарда на фоне применения адалата, свидетельствует, что блокада транспорта ионов Ca^{2+} на уровне высокопороговых (HVA) потенциалзависимых ионных каналов L-типа клеточной мембраны влияет на функциональную активность дыхательной цепи кардиомиоцитов, восстанавливая активность I фермент-субстратного комплекса и регуляторно сдерживая активность СДГ в зоне II фермент-субстратного комплекса ДЦ, тем самым предупреждая низкоэнергетический сдвиг в ткани. Помимо целесообразности снижения проводимости ионных каналов, проведенное исследование выявляет важность коррекции сукцинатзависимого звена дыхательной цепи, обусловленную тем, что его работа опосредуется функционированием рецепторов суперсемейства GPCR (G-protein coupled receptors), запускающих различные биохимические каскады реакций сигнальных молекул — вторичных «мессенджеров» (циклический аденозинмонофосфат, ионы Ca^{2+} , инозитолтрифосфат).

Очевидно, что дальнейшее изучение взаимосвязи между ионными каналами и энергетическим обменом клетки является актуальной задачей, как для современной структурной биологии и биофизики, так и для биотехнологии и фармакологии, а использованная традиционная полярографическая методика исследования может

дополнять более современные методы, такие как экспрессия рецепторных белков в различных микроорганизмах или бесклеточных системах белкового синтеза, выделение, очистка и рефолдинг структурных единиц рецепторов и ионных каналов, рентгеновская кристаллография, ЯМР-спектроскопия, криоэлектронная микроскопия и др. [43].

Доказано, что уменьшение избыточного накопления кальция в клетке с помощью лекарственных препаратов группы блокаторов высокопороговых (HVA) кальциевых каналов L-типа, регулируемых G-белками и сопрягающих возбуждение и сокращение в клетках миокарда, предотвращает нарушение энергетического обмена клетки, вероятно, предупреждая повреждение митохондрий и клеточных мембран во время гипоксии. Таким образом, к известным эффектам дигидропиридиновых блокаторов кальциевых каналов (гипотензивному, антиангинальному, антиоксидантному, антиишемическому) возможно добавить энергопротективное действие, тем самым расширив сферу применения представителей данной группы лекарственных препаратов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Biological membranes. Twelve essays on their organization, properties, and functions. Edited by D.S. Parsons. Clarendon Press, Oxford, 1975. 206 p.
2. Белослудцев К.Н., Дубинин М.В., Белослудцева Н.В., Миронина Г.Д. Транспорт ионов Ca^{2+} митохондриями: механизмы, молекулярные структуры и значение для клетки // Биохимия. 2019. Т. 84, № 6. С. 759–775. DOI: 10.1134/S0320972519060022
3. Шишкина Л.Н., Климович М.А., Козлов М.В. Новый подход к анализу участия окислительных процессов в регуляции метаболизма в тканях животных // Биофизика. 2014. Т. 59, № 2. С. 380–386. DOI: 10.1134/S0006350914020249
4. Кирьяков В.А., Павловская Н.А., Лапко И.В., и др. Воздействие производственной вибрации на организм человека на молекулярно-клеточном уровне // Медицина труда и промышленная экология. 2018. Т. 9. С. 34–43. DOI: 10.31089/1026-9428-2018-9-34-43
5. Костюк И.Ф., Капустник В.А. Роль внутриклеточного обмена кальция в развитии вазоспастических реакций при вибрационной болезни // Медицина труда и промышленная экология. 2004. № 7. С. 14–17.
6. Третьяков С.В., Шпагина Л.А. Перспективы изучения структурно-функционального состояния сердечно-сосудистой системы у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией // Медицина труда и промышленная экология. 2017. № 12. С. 30–34.

и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: В.В. Воробьева, О.С. Левченкова — написание статьи, анализ данных; П.Д. Шабанов — рецензирование статьи, разработка общей концепции.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. The contribution of each author: V.V. Vorobieva, O.S. Levchenkova — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; P.D. Shabanov — paper reconceptualization and general concept discussion.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

7. Коротенко О.Ю., Панев Н.И., Корчагина Ю.С., и др. Формирование патологии внутренних органов у шахтеров с вибрационной болезнью // Медицина труда и промышленная экология. 2020. Т. 60, № 6. С. 399–403. DOI: 10.31089/1026-9428-2020-60-6-399-403
8. Meregalli P., Wilde A., Tan H. Pathophysiological mechanisms of Brugada syndrome: depolarization disorder, repolarization disorder, or more? // Cardiovasc Res. 2005. Vol. 67, No. 3. P. 367–378. DOI: 10.1016/j.cardiores.2005.03.005
9. Felix R. Channelopathies: ion channel defects linked to heritable clinical disorders // J Med Genet. 2000. Vol. 37, No. 10. P. 729–740. DOI: 10.1136/jmg.37.10.729
10. Verkerk A., Wilders R., van Borren M., et al. Pacemaker current (I_p) in the human sinoatrial node // Eur Heart J. 2007. Vol. 28, No. 20. P. 2472–2478. DOI: 10.1093/eurheartj/ehm339
11. Бокерия О.Л., Ахобеков А.А. Ионные каналы и их роль в развитии нарушений ритма сердца // Анналы аритмологии. 2014. Т. 11, № 3. С. 177–184.
12. Grant A., Carboni M., Neplioeva V., et al. Long QT syndrome, Brugada syndrome, and conduction system disease are linked to a single sodium channel mutation // J Clin Invest. 2002. Vol. 110, No. 8. P. 1201–1209. DOI: 10.1172/JCI15570
13. Воробьева В.В., Шабанов П.Д. Вибрационная модель гипоксического типа клеточного метаболизма, оцененная на кардио-

миоцитах кролика // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2009. Т. 147, № 6. С. 712–715.

14. Воробьева В.В., Шабанов П.Д. Клеточные механизмы формирования гипоксии в тканях экспериментальных животных на фоне варьирования характеристик вибрационного воздействия // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019. Т. 17, № 3. С. 59–70. DOI: 10.17816/RCF17359-70

15. Catterall W.A., Chandy K.G., Clapham D.E., Perez-Reye E. International union of pharmacology: Approaches to the nomenclature of voltage-gated ion channels // *Pharmacol Rev.* 2003. Vol. 55, No. 4. P. 573–574. DOI: 10.1124/pr.55.4.8

16. Zhang Z., Xu Y., Song H., et al. Functional Roles of Cav 1.3 (alpha1D) calcium channel in sinoatrial nodes: insight gained using gene targeted null mutant mice // *Circ Res.* 2002. Vol. 90, No. 9. P. 981–987. DOI: 10.1161/01.res.0000018003.14304.e2

17. Katz A.M. Calcium channel diversity in the cardiovascular system // *J Am Coll Cardiol.* 1996. Vol. 28, No. 2. P. 522–529. DOI: 10.1016/0735-1097(96)00170-2

18. Ginsburg K.S., Bers D.M. Modulation of excitation contraction coupling by isoproterenol in cardiomyocytes with controlled SR Ca²⁺ load and Ca²⁺ current trigger // *J Physiol.* 2004. Vol. 556, Pt 2. P. 463–480. DOI: 10.1113/jphysiol.2003.055384

19. Reuter H., Han T., Motter C., et al. Mice overexpressing the cardiac sodium calcium exchanger: defects in excitation contraction coupling // *J Physiol.* 2004. Vol. 554, Pt 3. P. 779–789. DOI: 10.1113/jphysiol.2003.055046

20. Peterson B.Z., Demaria C.D., Adelman J.P., et al. Calmodulin is the Ca²⁺ sensor for Ca²⁺ dependent inactivation of L type calcium channels // *Neuron.* 1999. Vol. 22, No. 3. P. 549–558. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80709-6

21. Zuhlke R.D., Pitt G.S., Deisseroth K., et al. Calmodulin supports both inactivation and facilitation of L type calcium channels // *Nature.* 1999. Vol. 399, No. 6732. P. 159–162. DOI: 10.1038/20200

22. Bolli R., Marban E. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning // *Physiol. Rev.* 1999. Vol. 79, No. 2. P. 609–634. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.2.609

23. Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias // *Physiol. Rev.* 1999. Vol. 79, No. 3. P. 917–1017. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.3.917

24. Coetzee W.A., Amarillo Y., Chiu J., et al. Molecular diversity of K⁺ channels // *Ann NY Acad Sci.* 1999. Vol. 868, No. 1. P. 233–255. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb11293.x

25. Nattel S., Li D. Ionic remodeling in the heart: pathophysiological significance and new therapeutic opportunities for atrial fibrillation // *Circ. Res.* 2000. Vol. 87, No. 6. P. 440–447. DOI: 10.1161/01.res.87.6.440

26. Hrynevich S.V., Waseem T.V., Fedorovich S.V. Estimation of the mitochondrial calcium pool in rat brain synaptosomes using Rhod-2 am fluorescent dye // *Biophysic.* 2017. Vol. 62, No. 1. P. 75–78. DOI: 10.1134/S0006350917010079

27. Leung A.W., Waranyuwatana 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. Vol. 283, No. 39. P. 26312–26323. DOI: 10.1074/jbc.M805235200

28. Raturi A., Simmen T. Where the endoplasmic reticulum and the mitochondrion the knot: the mitochondria-associated membrane (MAM) // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. Vol. 1833. P. 213–224. DOI: 10.1016/j.bbamer.2012.04.013

29. Hirabayashi Y., Kwon S.K., Paek H., et al. ER-mitochondria tethering by PDZD8 regulates Ca²⁺ dynamics in mammalian neuros // *Sciens.* 2017. Vol. 358, No. 6363. P. 623–630. DOI: 10.1126/science.aan6009

30. Pogzig H., Becher C. Voltage-dependent cooperative in interactions between Ca²⁺-channel blocking drugs in intact cardiac cell // *Annals NY Acad Sci.* 1994. Vol. 560. P. 306–308.

31. Chen J., Devivo M., Dingus J., et al. A region of adenylatcyclase 2 critical for regulation by G protein βγ subunits // *Science.* 1995. Vol. 268, No. 5214. P. 1166–1169.

32. Tkachuk V.A., Avakian A.E. Molecular mechanisms of G-Proteins with membrane receptors and second messenger systems // *Russian Journal of Physiology.* 2008. Vol. 89, No. 12. P. 1478–1490.

33. Abernethy D.R., Soldatov J. Structure-functional diversity of human L-type Ca²⁺ channel: perspective for new pharmacological targets // *J Pharmacol Exp Ther.* 2002. Vol. 300, No. 3. P. 724–728. DOI: 10.1124/jpet.300.3.724

34. Widerberg A., Bergman S., Danielsen N., et al. Nerve injury induced by vibration: prevention of the effect of a conditioning lesion by D600, Ca²⁺ channel blocken // *Occup Environ Med.* 1997. Vol. 54, No. 5. P. 312–315. DOI: 10.1136/oem.54.5.312

35. Wappl E. Mechanism of dihydropyridine interaction with critical binding residues of L-type Ca²⁺ channel alpha 1 subunits // *J Biol Chem.* 2001. Vol. 276, No. 16. P. 12730–12735. DOI: 10.1074/jbc.M010164200

36. Casolo G., Stroder P., Rega L., et al. Regression of left ventricular hypertrophy after slow-release nifedipine administration in post-myocardial infarction patients (abstract) // *Eur Heart J.* 1996. Vol. 17. P. 910–913.

37. Vorobieva V.V., Shabanov P.D. Exposure to whole body vibration impairs the functional activity of the energy producing system in rabbit myocardium // *Biophysics.* 2019. Vol. 64, No. 2. P. 337–342. DOI: 10.1134/2FS0006350919020210

38. Кондрашова М.Н. Аппаратура и порядок работы при полярографическом измерении дыхания митохондрий. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / под ред. Г.М. Франка, М.Н. Кондрашовой, Е.Н. Моховой, Ю.С. Ротенберг. Москва: Изд-во Наука, 1973. С. 50–59.

39. Лукьянова Л.Д. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. Москва: Медицина, 2004. 520 с.

40. Никольс Д. Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию. Москва: Мир, 1985. 190 с.

41. Скулачев В.П., Богачев А.В., Каспаринский Ф.О. Мембранная биоэнергетика: учебное пособие. Москва: Изд-во Московского университета, 2010. 368 с.

42. Минкевич И.Г. Стехиометрия метаболических путей в динамике клеточных популяций // *Компьютерные исследования и моделирование.* 2011. Т. 3, № 4. С. 455–475. DOI: 10.20537/2076-7633-2011-3-4-455-475

43. Adamantidis A., Arber S., Bains J.S., et al. Optogenetics: 10 years after ChR2 in neurons — views from the community // *Nat Neurosci.* 2015. Vol. 18, No. 9. P. 1202–1212. DOI: 10.1038/nn.4106

REFERENCES

1. Biological membranes. Twelve essays on their organization, properties, and functions. Edited by Parsons DS. Clarendon Press, Oxford; 1975. 206 p.
2. Belosludcev KN, Dubinin MV, Belosludceva NV, Mironova GD. Mitochondrial Ca²⁺ transport: mechanisms, molecular structures, and role in cells. *Biocyemistry*. 2019;84(6):759–775. (In Russ.) DOI: 10.1134/S03209725190600022
3. Shishkina LN, Klimovich MA, Kozlov MV. A new approach to analysis of participation of oxidative processes in regulation of metabolism in animal tissues. *Biophysics*. 2014;59(2):904–909. (In Russ.) DOI: 10.1134/S0006350914020249
4. Kir'yakov VA, Pavlovskaya NA, Lapko IV, et al. Impact of occupational vibration on molecular and cell level of human body. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2018;9:34–43. (In Russ.) DOI: 10.31089/1026-9428-2018-9-34-43
5. Kostyuk IF, Kapustnik VA. Role of intercellular calcium metabolism in vasospasm formation during vibration disease. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2004;7(7):14–17. (In Russ.)
6. Tret'yakov SV, Shpagina LA. Prospects of studying structural and functional state of cardiovascular system in vibration disease patients with arterial hypertension. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2017;12:30–34. (In Russ.)
7. Korotenko OYu, Panev NI, Korchagina YuS, et al. Formation of pathology of internal organs in miners with vibration disease. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2020;60(6):399–403. (In Russ.) DOI: 10.31089/1026-9428-2020-60-6-399-403
8. Meregalli P, Wilde A, Tan H. Pathophysiological mechanisms of Brugada syndrome: depolarization disorder, repolarization disorder, or more? *Cardiovasc Res*. 2005;67(3):367–378. DOI: 10.1016/j.cardiores.2005.03.005
9. Felix R. Channelopathies: ion channel defects linked to heritable clinical disorders. *J Med Genet*. 2000;37(10):729–740. DOI: 10.1136/jmg.37.10.729
10. Verkerk A, Wilders R, van Borren M, et al. Pacemaker current (*I_p*) in the human sinoatrial node. *Eur Heart J*. 2007;28(20):2472–2478. DOI: 10.1093/eurheartj/ehm339
11. Bockeria OL, Akhobekov AA. Ion channels and their role in the development of arrhythmias. *Annaly aritmologii*. 2014;11(3):177–184. (In Russ.) DOI: 10.15275/annaritm.2014.3.6
12. Grant A, Carboni M, Neplioueva V, et al. Long QT syndrome, Brugada syndrome, and conduction system disease are linked to a single sodium channel mutation. *J Clin Invest*. 2002;110(8):1201–1209. DOI: 10.1172/JCI15570
13. Vibration model for hypoxic type of cell metabolism evaluated on rabbit cardiomyocytes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2009;147(6):712–715. (In Russ.)
14. Vorobieva VV, Shabanov PD. Cellular mechanisms of hypoxia development in the tissues of experimental animals under varying characteristics of vibration exposure. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(3):59–70. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF17359-70
15. Catterall WA, Chandry KG, Clapham DE, Perez-Reye E. International union of pharmacology: Approaches to the nomenclature of voltage-gated ion channels. *Pharmacol Rev*. 2003;55(4):573–574. DOI: 10.1124/pr.55.4.8
16. Zhang Z, Xu Y, Song H, et al. Functional Roles of Cav 1.3 (alpha1D) calcium channel in sinoatrial nodes: insight gained using gene targeted null mutant mice. *Circ Res*. 2002;90(9):981–987. DOI: 10.1161/01.res.0000018003.14304.e2
17. Katz AM. Calcium channel diversity in the cardiovascular system. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28(2):522–529. DOI: 10.1016/0735-1097(96)00170-2
18. Ginsburg KS, Bers DM. Modulation of excitation contraction coupling by isoproterenol in cardiomyocytes with controlled SR Ca²⁺ load and Ca²⁺ current trigger. *J Physiol*. 2004;556(Pt2):463–480. DOI: 10.1113/jphysiol.2003.055384
19. Reuter H, Han T, Motter C, et al. Mice overexpressing the cardiac sodium calcium exchanger: defects in excitation contraction coupling. *J Physiol*. 2004;554(Pt3):779–789. DOI: 10.1113/jphysiol.2003.055046
20. Peterson BZ, Demaria CD, Adelman JP, et al. Calmodulin is the Ca²⁺ sensor for Ca²⁺ dependent inactivation of L type calcium channels. *Neuron*. 1999;22:549–558. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80709-6
21. Zuhlke RD, Pitt GS, Deisseroth K, et al. Calmodulin supports both inactivation and facilitation of L type calcium channels. *Nature*. 1999;399(6732):159–162. DOI: 10.1038/20200
22. Bolli R, Marban E. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev*. 1999;79(2):609–634. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.2.609
23. Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev*. 1999;79(3):917–1017. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.3.917
24. Coetzee WA, Amarillo Y, Chiu J, et al. Molecular diversity of K⁺ channels. *Ann NY Acad Sci*. 1999;868(1):233–255. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb11293.x
25. Nattel S, Li D. Ionic remodeling in the heart: pathophysiological significance and new therapeutic opportunities for atrial fibrillation. *Circ Res*. 2000;87(6):440–447. DOI: 10.1161/01.res.87.6.440
26. Hrynevich SV, Waseem TV, Fedorovich SV. Estimation of the mitochondrial calcium pool in rat brain synaptosomes using Rhod-2 am fluorescent dye. *Biophysics*. 2017;62(1):75–78. DOI: 10.1134/S0006350917010079
27. Leung AW, Waranyuwatana P, Halestrap AP. The mitochondrial phosphate carrier interacts with cyclophilin D and may play a key role in the permeability transition *J Biol Chem*. 2008;283(39):26312–26323. DOI: 10.1074/jbc.M805235200
28. Raturi A, Simmen T. Where the endoplasmic reticulum and the mitochondrion the knot: the mitochondria-associated membrane (MAM). *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833:213–224. DOI: 10.1016/j.bbamer.2012.04.013
29. Hirabayashi Y, Kwon SK, Paek H, et al. ER-mitochondria tethering by PDZD8 regulates Ca²⁺ dynamics in mammalian neuros. *Sciens*. 2017;358(6363):623–630. DOI: 10.1126/science.aan6009
30. Pogzig H, Becher C. Voltage-dependent cooperative in interactions between Ca²⁺-channel blocking drugs in intact cardiac cell. *Annals NY Acad Sci*. 1994;560:306–308.
31. Chen J, Devivo M, Dingus J, et al. A region of adenylyltransferase 2 critical for regulation by G protein βγ subunits. *Science*. 1995;268(5214):1166–1169. DOI: 10.1126/science.7761832
32. Tkachuk VA, Avakian AE. Molecular mechanisms of G-Proteins with membrane receptors and second messenger systems. *Russian Journal of Physiology*. 2008;89(12):1478–1490.
33. Abernethy DR, Soldatov J. Structure-functional diversity of human L-type Ca²⁺ channel: perspective for new pharma-

cological targets. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;300(3):724–728. DOI: 10.1124/jpet.300.3.724

34. Widerberg A, Bergman S, Danielsen N, et al. Nerve injury induced by vibration: prevention of the effect of a conditioning lesion by D600, Ca²⁺ channel blocker. *Occup Environ Med.* 1997;54(5):312–315. DOI: 10.1136/oem.54.5.312

35. Wappl E. Mechanism of dihydropyridine interaction with critical binding residues of L-type Ca²⁺ channel alpha 1 subunits. *J Biol Chem.* 2001;276(16):12730–12735. DOI: 10.1074/jbc.M010164200

36. Casolo G, Stroder P, Rega L, et al. Regression of left ventricular hypertrophy after slow-release nifedipine administration in post-myocardial infarction patients (abstract). *Eur Heart J.* 1996;17:910–913.

37. Vorobieva VV, Shabanov PD. Exposure to whole body vibration impairs the functional activity of the energy producing system in rabbit myocardium. *Biophysics.* 2019;64(2):337–342. DOI: 10.1134/2FS0006350919020210

38. Kondrashova MN. Apparatura i poryadok raboty pri polyarograficheskom izmerenii dykhaniya mitokhondrii. Rukovodstvo

po izucheniyu biologicheskogo okisleniya polyarograficheskim metodom. G.M. Frank, M.N. Kondrashova, E.N. Mokhova, Yu.S. Rotenberg, eds. Moscow: Nauka; 1973. P. 50–59. (In Russ.)

39. Luk'yanova LD. Problemy gipoksii: molekulyarnye, fiziologicheskie i meditsinskie aspekty. Moscow; 2004. 520 s. (In Russ.)

40. Nikol's D. Bioenergetika. Vvedenie v khemosmoticheskuyu teoriyu. Moscow: Mir; 1985. 190 p. (In Russ.)

41. Skulachev VP, Bogachev AV, Kasparinskij FO. Membrannaya bioenergetika; Uchebnoe posobie Moscow: Moscow University Press; 2010. 368 p. (In Russ.)

42. Minkevich IG. The stoichiometry of metabolic pathways in the dynamics of cellular populations. *Computer Research and Modeling.* 2011;3(4):455–475. (In Russ.) DOI: 10.20537/2076-7633-2011-3-4-455-475

43. Adamantidis A, Arber S, Bains JS, et al. Optogenetics: 10 years after ChR2 in neurons — views from the community. *Nat Neurosci.* 2015;18(9):1202–1212. DOI: 10.1038/nn.4106

ОБ АВТОРАХ

***Виктория Владимировна Воробьева**, д-р мед. наук, старший преподаватель кафедры фармакологии; адрес: Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, лит. Ж; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6257-7129>; eLibrary SPIN: 2556-2770; e-mail: v.v.vorobeva@mail.ru

Ольга Сергеевна Левченкова, канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9595-6982>; eLibrary SPIN: 2888-6150; e-mail: novikov.farm@yandex.ru

Петр Дмитриевич Шабанов, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры фармакологии; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

***Viktoriya V. Vorobieva**, Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Senior Lecturer, Department of Pharmacology; address: 6, lit. Zh, Akademika Lebedeva st., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6257-7129>; eLibrary SPIN: 2556-2770; e-mail: v.v.vorobeva@mail.ru

Olga S. Levchenkova, Cand. Sci. Med. (Pharmacology), Assistant Professor, Department of Pharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9595-6982>; eLibrary SPIN: 2888-6150; e-mail: novikov.farm@yandex.ru

Petr D. Shabanov, Dr. Sci. Med. (Pharmacology), Professor, Department of Pharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru