

ИНГИБИРОВАНИЕ Na^+/H^+ ОБМЕНА КАК НОВЫЙ ПОДХОД К ЗАЩИТЕ МИОКАРДА ОТ ИШЕМИЧЕСКОГО И РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

© Я. Ф. Зверев, В. М. Брюханов

Алтайский медицинский университет, Барнаул

Ключевые слова:

Na^+/H^+ обмен, миокард, ишемия, реперфузия, лечение коронарной недостаточности

Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. Ингибирование Na^+/H^+ обмена как новый подход к защите миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения // *Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии.* — 2003. — Т. 2. — № 3. — С. 16–34.

Обзор посвящен изучению роли Na^+/H^+ обмена в развитии ишемического и реперфузионного повреждения миокарда. Рассматриваются вопросы регуляции активности Na^+/H^+ обмена, ингибиторы Na^+/H^+ обменника (амилорид и аналоги, ацилгуанидиновые производные, другие соединения). Авторы обосновывают новый подход к защите миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения с помощью угнетения Na^+/H^+ обмена. Библ. 163 назв.

РОЛЬ Na^+/H^+ ОБМЕНА В РАЗВИТИИ ИШЕМИЧЕСКОГО И РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА

Интенсивная терапия ишемической болезни сердца остается актуальной задачей современной кардиологии. Применение в последние годы активных хирургических и терапевтических методов лечения способствовало возникновению новой серьезной проблемы — развитию так называемого постишемического реперфузионного синдрома. Этот синдром обусловлен возобновлением и оптимизацией коронарного кровотока, что приводит к реперфузии и реоксигенации миокарда. Между тем этот, на первый взгляд абсолютно благоприятный эффект, таит в себе целый ряд опасностей для не успевшего адаптироваться к новым условиям сердца. Эти опасности настолько серьезны, что могут спровоцировать развитие различных нарушений ритма сердечной деятельности, острой сердечной недостаточности и даже гибели больного.

Современные подходы к борьбе с ишемическим и реперфузионным повреждением миокарда включают применение лекарственных препаратов, позволяющих минимизировать степень клеточного повреждения и увеличить адаптационные возможности миокарда. Эти цели достигаются применением оксида азота, блокаторов Ca^{2+} -каналов, антиоксидантов, сквенджеров свободных кислородных радикалов, ингибиторов апоптоза, синтеза простагландинов и комплемента, агонистов аденозиновых рецепторов, препаратов, способствующих открыванию АТФ-чувствительных калиевых каналов, ингибиторов АПФ и др. Кроме того, перспективным выглядит использование веществ, способствующих развитию так называемой «ишемической preconditioning» (*ischemic preconditioning*), своеобразной тренировки сердечной мышцы, повышающей ее адаптацию к ишемии и реперфузии [65, 142, 148].

Наш интерес в контексте обсуждаемой проблемы продиктован традиционным вниманием к более узкому (но от этого не ставшего менее важным!) вопросу ионного транспорта в кардиоцитах и его нарушениям в ходе развития постишемического реперфузионного синдрома. В последние годы выяснилось, что именно эти нарушения во многом обуславливают возникновение различных реперфузионных осложнений. А поскольку это так, появляются новые возможности их предотвращения и устранения путем коррекции упомянутых нарушений транспорта электролитов. Этому вопросу и посвящено данное аналитическое исследование.

В значительной мере проблемы реперфузируемого миокарда связаны с развитием так называемых «кальциевого» и «кислородного» парадоксов.

Первый из них обусловлен переполнением кардиоцитов ионами кальция вскоре после возобновления коронарного кровотока. По современным представлениям развитие кальциевого парадокса обеспечивается следующими причинами. В результате ишемии в клетках миокарда развиваются значительные метаболические нарушения. Возникает дисбаланс между процессами гликолиза и окисления глюкозы, что приводит к развитию внутриклеточного ацидоза. Хорошо известно, что основной энергетический источник миокарда — аэро-

бный путь образования АТФ в результате окислительного фосфорилирования продуктов распада углеводов, жиров и белков. В условиях гипоксии и ишемии вследствие дефицита кислорода этот путь снабжения энергией страдает в наибольшей степени, и на первый план выходит гликолитический источник АТФ, обеспечиваемый анаэробным окислением глюкозы (гликогена). Этот альтернативный компенсаторный процесс в условиях ишемии усиливается в десятки раз и обеспечивает до 80% всей образующейся энергии. В раннем реперфузионном периоде синтез гликолитического АТФ сохраняется на более высоком уровне, чем в нормальных условиях. При этом, однако, потребности основного обмена в миокарде удовлетворяются лишь на одну-две трети [3,9]. Именно активированный анаэробный гликолиз индуцирует накопление молочной кислоты и развитие внутриклеточного ацидоза. Ацидоз оказывает неблагоприятное воздействие на клетки миокарда. Развивается их набухание, изменяются электрофизиологические параметры, страдает контрактильная функция и метаболизм [17, 101, 111, 123]. В экспериментах на изолированных сердцах и папиллярных мышцах крыс уменьшение pH_i с 7,36 до 6,91 индуцировало снижение давления, развиваемого левым желудочком, одновременно с повышением конечного диастолического давления [5]. Не исключено, что нарушения контрактильности в этих условиях связаны с подавлением выходящего тока K^+ , что, в свою очередь, обусловлено угнетающим воздействием внутриклеточного избытка протонов на проводимость или воротные свойства калиевых каналов с внутренней стороны мембраны [154].

Учитывая вышеизложенное, становится понятным, что в условиях восстановления кровотока (реперфузия) одним из основных путей ликвидации последствий ишемии является устранение (или ослабление) внутриклеточного ацидоза. А для этого имеется две основных возможности. Главная из них — активация мембранных Na^+/H^+ обменников (NHE), выталкивающих протоны из клетки в обмен на ионы натрия. Дополнительным механизмом является $Na^+-HCO_3^-$ симпорт (NBS), направленный внутрь клетки и обеспечивающий поступление в клетку бикарбоната. При этом относительный вклад NHE в процесс ликвидации внутриклеточного ацидоза составляет 60–70%, NBS — 30–40% [86, 88]. Такая пропорция все же более характерна для физиологических условий. При ликвидации последствий ишемии во время реперфузии роль NHE, по всей вероятности, неизмеримо возрастает [72]. И все же окончательно принижать роль NBS в борьбе с внутриклеточным ацидозом, по-видимому, не следует. По крайней мере, периодически появляются данные о важности этого механизма [103, 126]. Попутно заметим, что существуют и другие, менее значимые, механизмы борьбы с внутриклеточным ацидозом. Например, относительно недавно идентифицирована вакуольная протонная АТФаза (VP-АТФаза), обеспечивающая выброс протонов из цитоплазмы и восстановление внутриклеточного pH после ишемии [74].

Таким образом, из приведенных выше сведений следуют выделить два основных момента: 1) решающая роль Na^+/H^+ обмена на сарколеммных мембранах ишемизированных кардиоцитов в ликвидации внутриклеточного ацидоза и 2) резкое возрастание внутриклеточного содержания ионов Na^+ (Na^+_i), обусловленное Na^+/H^+ обменником и $Na^+-HCO_3^-$ симпортом.

Разумеется, увеличение Na^+_i обеспечивается не только активацией NHE и NBS. Существуют и другие пути, большинство из которых активируется в условиях ишемии/реперфузии. Еще в начальный период ишемии наряду с другими ключевыми ферментами происходит ингибирование Na^+ , K^+ -АТФазы, обеспечивающей, как известно, выброс из клетки ионов Na^+ [4, 14, 71, 145]. Параллельно в условиях ишемии сохраняется активность $Na^+-K^+-2Cl^-$ котранспорта, направленного внутрь кардиоцитов. Показано, что в условиях ишемии, индуцированной гипотермией, применение специфических ингибиторов этого симпорта фуросемида и буметанида существенно снижает накопление внутриклеточного натрия клетками миокарда крыс [117]. Определенную роль в увеличении Na^+_i , очевидно, играют и потенциалзависимые Na^+ -каналы. В сердцах экспериментальных животных, подвергнутых аноксии, определялся значительный рост внутриклеточного Na^+ , который частично предупреждался применением специфических ингибиторов Na^+ -каналов тетродотоксина и лидокаина, что облегчало процесс восстановления функции миокарда в условиях реперфузии, а также оказывало противоаритмическое действие [37, 97, 141]. И все же роль NHE в сравнении с Na^+ -каналами представляется доминирующей. Так, показано, что вклад Na^+ -каналов является существенным лишь в условиях ацидотической аноксии. На фоне же большинства других ситуаций, моделирующих ишемию, Na^+ -каналы играли менее значимую роль в сравнении с Na^+/H^+ обменом [34]. Не исключено, что определенный (хотя и не столь значительный) вклад вносит увеличение внутриклеточного Na^+ в период ишемии/реперфузии через так называемый медленный обратный ток натрия, обеспечивающий фазу медленной деполяризации клеток миокарда [114]. Отметим также возможную роль потери селективности медленных Ca^{2+} -каналов в условиях ишемии, что открывает дополнительные возможности для входа Na^+ [1, 15, 117]. Наконец, недавно выяснено, что одним из механизмов, обеспечивающих рост внутриклеточного натрия в кардиоцитах, является сцепленный входящий симпорт Na^+ и аминокислоты таурина. В экспериментах на клетках миокарда куриных эмбрионов введение таурина приводило к росту внутриклеточного содержания Na^+ и Ca^{2+} , а предварительное использование ингибитора указанного симпорта бета-аланина предотвращало этот рост [16].

Однако, несмотря на обилие путей поступления натрия в клетку, еще раз подчеркнем — решающая роль в росте Na^+_i принадлежит, несомненно, Na^+/H^+ обменному механизму на мембранах сар-

колеммы кардиоцитов. По всей вероятности, этот ионообменник, являющийся одним из основных способов регуляции внутриклеточного pH, а также натриевого и кальциевого гомеостаза в клетках миокарда, приобретает эксклюзивную роль в условиях ишемии и реперфузии. Сегодня идентифицировано 6 изоформ NHE (NHE_1 – NHE_6). Почти все они связаны с сарколеммой мембраной, и лишь NHE_6 локализован внутриклеточно. Преобладающей изоформой обменника, идентифицированной в кардиоцитах млекопитающих, является NHE_1 [72]. Установлено, что NHE_1 представляет собой гликопротеин 110 kDa, обеспечивающий сарколеммный обмен Na^+ и H^+ со стехиометрией 1:1, что свидетельствует об электронейтральности процесса [66, 71]. Выяснено также, что протеин NHE состоит из мембранного транспортирующего N-терминального домена, который несколько раз пересекает клеточную мембрану, и цитозольного регуляторного C-терминального домена. При этом N-терминальный домен определяет механику катионного обмена, а C-терминальный домен модулирует функционирование обменника, возможно, за счет взаимодействия с протеинкиназами и иными регулируемыми факторами [22, 40]. При ишемии миокарда происходит резкое (семикратное) увеличение экспрессии NHE_1 . При этом повышенная активность NHE сохраняется в широких физиологических и патофизиологических пределах. Так, даже в условиях выраженной гипотермии (до 17–20°C) NHE вносил вклад в развитие реперфузионного повреждения [13, 158]. Так что следует согласиться с мнением, согласно которому повышение продукции этого обменника представляет собой длительный адаптивный процесс в попытке сердечной клетки регулировать pH, что парадоксально вносит вклад в развитие сердечной патологии. По современным представлениям именно этот патофизиологический механизм имеет важное значение в развитии постинфарктной сердечной недостаточности [43, 66–68].

Таким образом, одним из основных последствий внутриклеточного ацидоза, развивающегося в условиях ишемии миокарда, является активация Na^+/H^+ обмена на сарколеммных мембранах кардиоцитов. А этот фактор, в свою очередь, приобретает ключевое значение в развитии кальциевого и кислородного парадоксов [52].

Итак, развитие внутриклеточного ацидоза в клетках миокарда обеспечивает активацию ряда механизмов, направленных на нормализацию pH, главным из которых является стимуляция Na^+/H^+ обмена. Каковы последствия этой стимуляции? Увы, основное последствие — переполнение клеток миокарда ионами кальция (кальциевый парадокс), что, в свою очередь, приводит к гиперконтрактивности и контрактуре вплоть до гибели клеток и обуславливает развитие фибрилляции желудочков и других тяжелых аритмий [127].

Механизм развития кальциевого парадокса в клетках миокарда обусловлен рядом причин, основной из которых является активация $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

обмена (NCX). Увеличение внутриклеточной концентрации ионов Na^+ в периоды ишемии и реперфузии является мощным стимулятором данного антипорта и в конечном счете обеспечивает переполнение кардиоцитов кальцием [2, 24, 25, 57, 107]. Этот факт установлен в целом ряде экспериментальных исследований. Показано, что различные процедуры, изменяющие градиент натрия (от удаления Na^+ с наружной стороны мембраны до ингибирования Na^+ , K^+ -АТФазы), немедленно приводят к росту внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в клетках сердечных клапанов кролика [90]. Поэтому неудивительно, что применение селективных ингибиторов NCX предотвращает или значительно ослабляет рост Ca^{2+} . В опытах с 20-минутной глобальной ишемией и последующей 30-минутной реперфузией изолированных сердец крыс, приводивших к значительным повреждениям миокарда, предварительное введение обратимого ингибитора $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ антипорта KB-R7943 восстанавливало функцию кардиоцитов до величины $95 \pm 7\%$ от исходного уровня [109]. Аналогичное действие наблюдалось на перфузируемых по Лангендорфу сердцах морских свинок, когда использование ингибиторов $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена предотвращало развитие кальциевого парадокса [76]. Отметим, что в приведенной работе селективное ингибирование Ca^{2+} -каналов L типа было значительно менее эффективным. Ключевая роль NCX в развитии кальциевой перегрузки кардиоцитов доказывается и другими экспериментальными данными. Так, специфическое подавление экспрессии обменника в культуре зрелых желудочковых миоцитов морских свинок на 94% одновременно снижало рост внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в условиях аноксии/реоксигенации на 95% [35].

Отметим, что приведенные данные не отрицают полностью роль медленных Ca^{2+} -каналов, как одного из путей роста Ca^{2+} . Более того, существует мнение о решающей роли этих каналов в увеличении внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [133]. И все же, подавляющее большинство авторов решающую роль отводят $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмену.

Таким образом, последовательность событий, происходящих в миокарде, подвергнутом ишемии/реперфузии, по-видимому, выглядит следующим образом. Ишемическое воздействие на кардиоциты приводит к развитию ацидоза, что в условиях последующей реперфузии активирует Na^+/H^+ обмен и обуславливает рост Na^+ . Это, в свою очередь, стимулирует $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ антипорт и обеспечивает переполнение клеток ионами кальция, что и ведет к развитию клеточной контрактуры и аритмии.

Как уже отмечалось, параллельно с развитием кальциевого парадокса в механизме ишемического и реперфузионного повреждения миокарда важная роль принадлежит и так называемому «кислородному парадоксу». Не вдаваясь в подробности возникновения этого феномена, отметим, что его суть заключается в резком нарушении сократимости миокарда вплоть до развития контрактуры миофиб-

рилл, выхода из кардиоцитов ряда важных ферментов, нарушения ультраструктуры клеток при реоксигенации миокарда, пребывавшего до этого в состоянии аноксии [4]. По-видимому, такой эффект реоксигенации обусловлен нарушением процесса восстановления молекулярного кислорода в ишемизированном миокарде, что ведет к накоплению значительных количеств активных форм кислорода. А это, в свою очередь, неизбежно приводит к интенсификации реакций свободнорадикального перекисного окисления липидов (СПОЛ). Активация СПОЛ имеет, как известно, целый ряд весьма неблагоприятных последствий, одним из которых является переполнение кардиоцитов ионами Ca^{2+} вследствие повреждения мембранного аппарата клетки. Таким образом, при реоксигенации, как и в условиях кальциевого парадокса, происходит резкий рост внутриклеточного концентрации Ca^{2+} , что является одной из причин развития повреждения миокарда [73].

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ Na^+/H^+ ОБМЕНА

Как было показано выше, важнейшим моментом, определяющим возникновение кальциевого парадокса в условиях ишемии/реперфузии, является активация Na^+/H^+ обменника в ответ на развившийся внутриклеточный ацидоз, что обуславливает переполнение клетки миокарда ионами Na^+ с последующим обменом Na^+ на внеклеточный Ca^{2+} главным образом посредством $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ антипорта. В этой связи представляется необычайно важным выявление факторов (кроме ацидоза), влияющих на активность NHE, что позволяет определить ключевые звенья патогенеза развивающихся повреждений и открывает возможности воздействия на них.

Известно, что период ишемии и ранней реперфузии характеризуется повышением содержания катехоламинов в миокарде. Непосредственно в зонах ишемии и реперфузии выявляется транзиторный рост концентрации норадреналина (НА), адреналина и ДОФА [4]. Исследования последних лет показывают, что важную роль в развитии реперфузионного повреждения миокарда играет норадреналин, обуславливающий развитие вначале положительного инотропного и аритмогенного эффектов, а впоследствии — гипертрофии миокарда. По всей видимости, отмеченное действие НА реализуется через стимуляцию $\alpha_{(1A)}$ -адренергических рецепторов, а это, в свою очередь, является одной из причин активации Na^+/H^+ обмена в сарколемме кардиоцитов [11, 134, 139]. Показано, что фенилэпинефрин и селективный агонист $\alpha_{(1A)}$ -адренергических рецепторов A 61603, действуя «руками» NHE, увеличивали выход протонов, нивелируя внутриклеточный ацидоз в вентрикулярных миоцитах взрослых крыс. При этом связанная с $\alpha_{(1A)}$ -адренергическими рецепторами активация NHE осуществлялась двумя путя-

ми: через стимуляцию ERK-киназы MAPK-каскада и через стимуляцию протеинкиназы C [134, 159]. Не исключено, что в процесс активации NHE, обеспечиваемый α_1 -адренорецепторами, вовлекается стимуляция фосфоинозитидного каскада [139]. С другой стороны, существуют сведения, согласно которым стимуляция β -адренергических рецепторов играет противоположную роль, усиливая процесс внутриклеточной ацидификации и замедляя скорость восстановления от внутриклеточного ацидоза, возможно, через накопление цАМФ. По крайней мере, в экспериментах на изолированных волокнах Пуркинье овец и кардиомиоцитах морских свинок адреналин и β -агонист изопреналин (но не α -агонист фенилэфрин) подобно активатору цАМФ форсколину индуцировали снижение pH_i [50, 87].

Другим эффекторным гормоном, усугубляющим повреждение миокарда в условиях ишемии/реперфузии, является ангиотензин II (All). Его действие усиливается во время ишемии и связано с повышением чувствительности миофибрилл к кальцию и с изменениями внутриклеточного pH , что проявляется в гиперконтрактивной реакции вплоть до клеточной контрактуры и обеспечивает развитие положительного инотропного эффекта [91]. По всей вероятности, описываемое действие All реализуется двумя путями: посредством стимулирования AT_1 -рецепторов миокарда и через активацию все того же Na^+/H^+ обменника. По крайней мере, и блокатор AT_1 -рецепторов лозартан, и ингибитор NHE амилорид примерно в равной степени ослабляли развитие сердечной дисфункции у крыс *in vivo*, а при их совместном применении выявлялся отчетливый аддитивный эффект [120]. Прямое повреждающее воздействие All, полностью предотвращаемое на фоне ингибирования NHE, выявлялось и в опытах *in vitro* на изолированных вентрикулярных миоцитах кролика в условиях метаболического ингибирования [18]. По-видимому, активированный с помощью All Na^+/H^+ обменник обеспечивает развитие внутриклеточного алкалоза, что и является причиной неблагоприятных «событий», происходящих в клетках миокарда [23, 91].

Таким образом, очевидно, что неблагоприятные эффекты норадреналина и ангиотензина II в условиях ишемии и реперфузии в значительной степени определяются стимулирующим воздействием на активность Na^+/H^+ обмена в кардиоцитах.

Этим, однако, не исчерпываются возможности регулирования активности NHE. Сравнительно недавно выяснилось, что Na^+/H^+ обмен стимулируется при прямом воздействии на миокард эндотелина (ЕТ). Этот мощный биоактивный пептид (особенно его изоформа ЕТ-1) усиленно синтезируется и накапливается в сердечной мышце в условиях ишемии/реперфузии, как и при других экстремальных ситуациях, в которые вовлекается сердце (операции по пересадке сердца, коронарное шунтирование и др.). При этом ЕТ-1 подобно All повышает контрактильность миокарда, что проявляется в виде положительного инотропного действия. Параллельно усиливается констрикция коронарных

сосудов. Эксперименты, поставленные на изолированных сердцах, папиллярных мышцах и миоцитах человека, морских свинок и крыс, показали, что, как и при воздействии АII, увеличение сократимости происходит на фоне сдвига pH в щелочную сторону и повышения внутриклеточного содержания Ca^{2+} . Естественное предположение о вовлечении в этот процесс NHE полностью подтвердилось, поскольку использование селективных ингибиторов этого ионообменника предотвращало инотропное действие ET-1 [19, 36, 47, 63, 76, 153]. Важно отметить, что аналогичным образом действовали и ингибиторы протеинкиназы C (PKC). Это наблюдение позволило большинству авторов приведенных выше исследований представить последовательность событий, происходящих при действии эндотелина-1, следующим образом. ET-1 стимулирует эндотелиновые (скорее всего ETA) рецепторы миокарда, что через фосфоинозитидный каскад и образование диацилглицерола приводит к активации PKC, а это, в свою очередь, индуцирует активность NHE, что и обеспечивает увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и повышение контрактильности.

Хорошо известно, что накопление свободных кислородных радикалов играет важную роль в развитии ишемического и особенно реперфузионного повреждения миокарда. Продукты свободно-радикального окисления во многом определяют развитие кислородного парадокса, индуцируют нарушения контрактильности, электрофизиологических характеристик, кальциевого гомеостаза, pH, что и приводит в конечном счете к развитию сердечной дисфункции в реперфузионный период [3, 4, 48, 64, 96]. Учитывая большое значение Na^+/H^+ обмена в процессе формирования реперфузионного повреждения миокарда, изучение возможной взаимосвязи между активацией NHE и интенсивностью перекисного окисления липидов в этих условиях выглядит вполне естественным. Как показали эксперименты, такая взаимосвязь существует. В опытах на изолированных сердцах крыс, подвергнутых ишемии с последующей реперфузией, применение перекиси водорода (H_2O_2) в концентрациях от 20 до 600 мкМ приводило к снижению скорости нарастания давления и к увеличению конечно-диастолического давления в левом желудочке, что является признаком выраженной сердечной дисфункции. Кроме того, H_2O_2 индуцировала и ряд метаболических нарушений: уменьшение содержания высокоэнергетических фосфатов и гликогена и увеличение уровня лактата. Введение в перфузат ингибиторов NHE предотвращало развитие указанных неблагоприятных эффектов [51, 59, 110].

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что развитие функциональных и метаболических нарушений в реперфузируемом миокарде, обусловленное свободнорадикальным окислением, связано с активацией NHE и может быть предотвращено или значительно ослаблено при угнетении этого ионообмена.

Одним из важнейших патофизиологических моментов в процессе развития ишемии и реперфузии является нарушение функционирования клеточных мембран. В значительной степени это касается изменений состава мембранных липидов. Гидролиз фосфолипидов, усиливающийся в условиях ишемии/реперфузии, с одной стороны приводит к образованию свободных жирных кислот, с другой — обуславливает накопление в клетке лизофосфолипидов. Лизофосфолипиды, несмотря на их небольшое содержание в мембранах (0,4–1,1%), при высвобождении оказывают крайне неблагоприятное воздействие на ишемизированный и реперфузируемый миокард. Особенно это касается лизофосфатидилхолина (LPC). Накопление этого метаболита приводит к нарушениям электрофизиологических характеристик кардиоцитов и контрактильности, индуцирует аритмии. Именно такие эффекты четко проявляются при применении экзогенных лизофосфолипидов в количествах, сопоставимых с накапливаемыми *in vivo* в условиях ишемии/реперфузии [3, 60, 129, 130, 135]. По всей вероятности, такое действие LPC в значительной степени обусловлено перегрузкой клеток кальцием, что и индуцирует их последующую контрактуру и гибель [42, 56, 146, 162]. Не исключено, что модулирующее влияние LPC на ионный транспорт реализуется через активирование процессов фосфорилирования, обеспечиваемого протеинкиназой C и тирозинкиназой [150].

Если учесть, что наряду с нарушением Ca^{2+} LPC существенно влияет на внутриклеточный pH, логичной выглядит взаимосвязь эффектов LPC и NHE. И такая связь была выявлена. В экспериментах на изолированных сердцах крыс LPC в концентрациях 3 и 5 мкМ/л вызывал резкое снижение скорости нарастания давления в левом желудочке и увеличение конечно-диастолического давления (до 19 ± 7 и $1290 \pm 205\%$ соответственно). Это действие в значительной степени подавлялось в условиях ингибирования Na^+/H^+ обмена: до 81 ± 9 и $270 \pm 32\%$ соответственно. Параллельно существенно ослаблялось угнетающее воздействие LPC на содержание АТФ, креатинфосфата и гликогена в кардиоцитах. Более того, значительные ультраструктурные повреждения, индуцируемые LPC, включая разрыв митохондрий и миофибрилл, полностью отсутствовали на фоне ингибирования NHE [58]. Приведенные сведения указывают на то, что повреждение миокарда, обусловленное накоплением LPC, связано с активацией Na^+/H^+ обменника и может быть эффективно ослаблено в условиях подавления последнего. Следует отметить, что существует и альтернативная точка зрения, согласно которой эффекты LPC обусловлены влиянием не на NHE, а избирательным воздействием на трансмембранный перенос HCO_3^- [157]. Но все-таки, по мнению большинства исследователей, повреждающее влияние лизофосфатидилхолина на миокард обусловлено активацией Na^+/H^+ и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменных механизмов [66, 68, 97].

Завершая рассмотрение данного вопроса, отметим, что давно установлено сходство токсических эффектов LPC и ацилкарнитина, проявляющееся в условиях ишемии/реперфузии. При этом отмечается аддитивность в действии этих соединений. Ацилкарнитин, промежуточный недоокисленный продукт свободных жирных кислот, является мембранотоксичным метаболитом, усугубляющим повреждение миокарда [3, 6, 28, 102, 122]. На изолированных кардиоцитах крыс ацилкарнитин дозозависимо увеличивал Ca^{2+} . При этом рост внутриклеточного содержания Ca^{2+} зависел от двух источников: от стимуляции входа Ca^{2+} из внеклеточного пространства и от усиления его высвобождения из саркоплазматического ретикулума. Поэтому и блокада Ca^{2+} -каналов L типа с помощью верапамила, и ингибирование $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена амилоридом аддитивно подавляли эффект ацилкарнитина [113]. Сходные результаты были получены в другом исследовании, когда использование ингибитора NHE диметиламилорида эффективно ослабляло развитие механической дисфункции и метаболических нарушений, индуцированных ацилкарнитинем на изолированных сердцах крыс [8].

Подводя итоги, резюмируем, что Na^+/H^+ обмен играет ключевую роль в развитии повреждения миокарда в условиях ишемии и реперфузии. Основным фактором, активирующим NHE, является внутриклеточный ацидоз. Кроме того, стимуляция обменника происходит под влиянием норадреналина (α_1 -адренергическая стимуляция), ангиотензина II (через AT_1 -рецепторы), эндотелина (изоформа ET-1), а также в условиях активации свободно-радикального окисления и накопления лизофосфатидилхолина и ацилкарнитина. Таким образом, стимулирование Na^+/H^+ обмена представляется неким универсальным механизмом, объединяющим комплекс внутриклеточных процессов, приводящих к развитию реперфузионных повреждений миокарда. Исходя из этого, становится совершенно понятной точка зрения, согласно которой NHE (как и факторы его активирующие) можно рассматривать как потенциальную и многообещающую фармакотерапевтическую мишень, воздействие на которую может ослаблять или даже предотвращать развитие ишемических и реперфузионных повреждений миокарда [72, 89].

ИНГИБИТОРЫ Na^+/H^+ ОБМЕНА

Амилорид и его аналоги

Рассмотренные выше некоторые патофизиологические аспекты развития повреждения миокарда в условиях ишемии и последующего восстановления кровотока демонстрируют важную роль Na^+/H^+ обмена в этом процессе. Понятно, что в данном контексте невозможно было обойти NHE как возможный объект кардиопротективного воздействия. Действительно, ингибирование NHE, ослабляя

выброс протонов и замедляя процесс восстановления от внутриклеточного ацидоза, снижает поступление в клетку ионов Na^+ , предупреждая дальнейшую перегрузку кардиоцитов кальцием. Это уменьшает возможность развития кальциевого парадокса и должно защитить миокард от реперфузионного повреждения, снизить степень контрактных нарушений и ослабить аритмогенный эффект. А поскольку к моменту создания этого логического построения был известен лишь один базовый препарат, обладающий способностью блокировать NHE — калийсберегающий диуретик амилорид, неудивительно, что это обусловило повышенное внимание к его возможным кардиопротективным свойствам.

Поэтому начало 90-х годов было ознаменовано, с одной стороны, проведением целого ряда экспериментальных исследований кардиопротективного действия амилорида, с другой стороны, появлением большого количества аналогов этого препарата, обладающих большей селективностью в отношении NHE. Здесь следует отметить значительную роль исследований, проведенных группой ученых Университета Западного Онтарио (Лондон, Канада) под руководством М. Karmazyn, усилиями которых было убедительно показано значение Na^+/H^+ обмена в развитии ишемического и реперфузионного повреждения миокарда и продолжают исследоваться кардиопротективные свойства аналогов амилорида и ингибиторов NHE следующих поколений.

Экспериментальные исследования четко показали наличие у амилорида благоприятного эффекта в отношении постишемического реперфузионного синдрома. Так, использование амилорида (10^{-5} M) за 5 мин до 20-минутной глобальной ишемии и последующей 30-минутной реперфузии работающих сердец крыс повышало восстановление аортального выброса с $41,6 \pm 2,7\%$ от предишемического уровня в контроле до $55,8 \pm 4,0\%$. Кроме того, будучи введенным даже в первые 2 минуты реперфузии, амилорид предупреждал развитие реперфузионных аритмий [32]. Подобные результаты были получены и в других экспериментах [7, 156, 161].

Важным вопросом, на который до сих пор не получено исчерпывающего ответа, является установление точного времени начала протективного эффекта амилорида. Это во многом связано с моментом активации работы Na^+/H^+ обменника (что также является дискуссионным): период ишемии или начало реперфузии? В большинстве приведенных выше исследований неперенным условием эффективности амилорида являлось его введение в перфузионный раствор до начала реперфузии. Имеются, однако, и другие сведения. Так, в опытах на работающих изолированных сердцах крыс применение амилорида (50 мМ/л) за 5 минут до ишемии не оказало существенного влияния. В то же время дополнительное введение препарата в перфузионный раствор в период реперфузии существенно ослабляло накопление в миокарде сво-

бодных жирных кислот, что расценивается как показатель уменьшения повреждения [112]. Сходным образом протективный эффект амилорида (500мкМ) при введении в реперфузионный раствор фиксировался в отношении функции левого желудочка крыс. При этом генерируемое желудочком давление восстанавливалось в большей степени, чем в контрольных опытах, хотя все же не достигало предшлемических значений [92]. Следует отметить, что в приведенной работе амилорид проявил протективный эффект только в отношении сердец зрелых и молодых, но не незрелых крыс. Это указывает, скорее всего, на различия в функционировании Na^+/H^+ обмена в зависимости от возраста животных.

Важно, что кардиопротективные свойства амилорида подтвердились и в условиях целостного организма. Причем благоприятный эффект препарата был продемонстрирован и в отношении длительно протекающего процесса ремоделирования миокарда. В опытах с экспериментальным инфарктом миокарда, индуцированным перевязкой левой нисходящей коронарной артерии крыс, 4-недельное введение амилорида (1 мг/кг в день) приводило к значительному уменьшению соотношений: вес сердца/вес тела и вес левого желудочка/вес тела. Кроме того, диаметр миокардиальных волокон в зоне, прилегающей к инфаркту, у крыс, получавших амилорид, был значительно меньшим в сравнении с контрольными животными, не получавшими препарат [54]. Сходные результаты были получены и в условиях длительного введения амилорида мышам [140].

В экспериментах на собаках было показано, что даже низкие концентрации амилорида у 50% животных подавляют появление стойких постинфарктных тахикардий [33]. Естественно, появилось стремление продемонстрировать подобный эффект и в кардиологической клинике. Полученные результаты оказались не столь впечатляющими как у животных или в опытах *in vitro*. И все же определенная эффективность была зафиксирована. Как показал автор вышеприведенной работы, у пациентов с симптоматической желудочковой тахикардией амилорид проявил антиаритмическую активность, полностью подавляя развитие аритмии у 6 из 31 человека [33]. В другом клиническом исследовании у 10 пациентов со стойкой желудочковой тахикардией сравнивали эффективность совместного использования хинидина и амилорида с одним хинидином. Оказалось, что комбинированное применение препаратов, в отличие от одного хинидина, наряду с противоаритмическим действием у 7 из 10 больных вызывало ряд побочных эффектов как со стороны сердечной деятельности (восстановление тахикардии), так и соматических. Авторы связывают часть из них с чрезмерным удлинением интервала QRS, выявленным на ЭКГ данных пациентов [147]. В предварительных экспериментах, проведенными этими же исследователями на папиллярной мышце морской свинки, комбинация амилорида и хинидина синергистически сни-

жала максимальную скорость роста фазы 0 (V_{max}) без изменений со стороны продолжительности потенциала действия. По мнению авторов, проаритмический эффект комбинации амилорида и хинидина, выявлявшийся у некоторых пациентов, был следствием синергистического усиления блокады натриевых каналов в клетках миокарда.

Как бы то ни было, экспериментальные и первые клинические наблюдения заставили серьезно подойти к дальнейшим исследованиям кардиопротективного действия ингибиторов NHE. И большая часть этих исследований была направлена на изучение различных аналогов амилорида. Дело в том, что сам амилорид не обладает достаточной степенью селективности в отношении изоформы NHE_1 , преобладающей в миокарде, что влияло на чистоту экспериментов и затрудняло интерпретацию получаемых результатов. В процессе направленного синтеза появилось значительное количество дериватов амилорида, превосходящих последний по способности избирательно ингибировать NHE_1 . Сегодня мы располагаем сведениями об экспериментальном изучении метилизобутиламилорида (MIA), 5-N-(4-хлорбензил)-2', 4'-диметилбензамила (CBDMB), 5-N-(метил-пропил)амилорида (MPA), 5-(N, N-диметил)амилорида (DMA), этилизопропиламилорида (EIPA), гексаметиленамилорида (HMA).

Изучение этих дериватов показало, что все они в той или иной степени обеспечивают развитие кардиопротекции в условиях ишемии и реперфузии. Так, если возобновление кровотока после 15-минутной ишемии приводило к 55%-ному восстановлению контрактильности, то введение в перфузат HMA (1 мкМ) увеличивало этот показатель до $72 \pm 7,8\%$ от уровня предшлемических значений. Аналогичный эффект был зафиксирован и на изолированных сердцах животных, подвергнутых гипоксии/реоксигенации. Если в контроле восстановление сократительной способности миокарда в течение 1 минуты реоксигенации после 12 минут гипоксии составило $35 \pm 3,2\%$, то использование HMA увеличивало этот показатель до $66 \pm 4,1\%$ [70]. В экспериментах на спонтанно сокращающихся изолированных сердцах крыс и морских свинок, подвергнутых 45-минутной тотальной ишемии и 30-минутной реперфузии, применение MIA за 15 минут до ишемии с последующим присутствием препарата в реперфузионном растворе приводило к существенно более полному восстановлению контрактильности миокарда крыс. В то время как в контрольных условиях (без MIA) сократимость в процессе реперфузии восстанавливалась до $25,6 \pm 6\%$ от исходного предшлемического уровня, использование ингибитора NHE увеличивало этот показатель до $55,4 \pm 9\%$. Одновременно MIA уменьшал время, необходимое для восстановления контрактильности: с $11,4 \pm 2,7$ мин в контроле до $2,6 \pm 0,5$ мин в опыте. Добавление MIA в перфузат только во время реперфузии, хотя и оказывало более слабое протективное действие, чем при дополнительном предварительном введении, все же значительно улучшало показатели восстановле-

ния сократимости миокарда в сравнении с контролем [108]. В последующих опытах было показано, что описываемое действие MIA обусловлено снижением кальциевого транзита, что и обеспечивало уменьшение контрактуры клеток [149]. Аналогичное воздействие на транспорт Ca^{2+} через сарколемную мембрану изолированных клеток желудочков крыс оказывал и другой дериват амилорида CBDMB [131].

И все же наибольшее применение в эксперименте нашли такие производные амилорида как DMA и EIPA.

На перфузируемых по Лангендорфу изолированных сердцах крыс введение в перфузат пальмитоил-L-карнитина индуцировало нарушение механической функции и изменения метаболизма в миокарде. В левом желудочке (ЛЖ) уменьшалась скорость нарастания давления и увеличивалось конечное диастолическое давление, снижался тканевой уровень АТФ с параллельным ростом АМФ. DMA (10 или 20 мкМ/л), не влиявший до этого на функционирование интактных сердец, значительно ослаблял механические и метаболические нарушения, обусловленные пальмитоил-L-карнитином [8]. Ранее кардиопротективное действие DMA было продемонстрировано в экспериментах с использованием реперфузируемой изолированной стенки правого желудочка сердца крысы, когда добавление препарата в перфузионный раствор эффективно защищало миокард от индуцируемой ишемией/реперфузией дисфункции. При этом наблюдавшийся эффект коррелировал с уменьшением содержания в миокарде ионов Na^+ и Ca^{2+} , а также с увеличением концентрации ионов K^+ [105, 106, 115].

Параллельно в эксперименте было продемонстрировано существенное кардиопротективное действие EIPA. На изолированных перфузируемых по Лангендорфу сердцах новорожденных кроликов было показано, что это действие коррелирует со снижением прироста внутриклеточной концентрации Na^+ и Ca^{2+} во время ишемии и реперфузии. Кроме того, при использовании EIPA происходило улучшение восстановления скорости нарастания давления в ЛЖ в период реперфузии: до $68,2 \pm 8,9\%$ от предишемических значений против $16,2 \pm 3,6\%$ в группе контрольных сердец. На ограничение повреждения миокарда под влиянием EIPA указывало также сохранение в клетках АТФ и уменьшение высвобождения общей креатинкиназы при реперфузии [94]. Поэтому неудивительно, что основные функциональные характеристики миокарда при применении EIPA восстанавливались в условиях возобновления коронарного тока значительно полнее. Так, аортальный выброс изолированных работающих сердец после 30- и 60-минутной ишемии в процессе реперфузии восстанавливался в контрольных экспериментах до $18,7 \pm 2,7$ и $15,7 \pm 1,8\%$ от предишемических величин соответственно. А при добавлении EIPA в перфузионный раствор (1 мкМ) этот показатель возрастал соответственно до уровня $31,4 \pm 3,3$ и

$38,9 \pm 4,4\%$. При этом добавление EIPA в период поздней ишемии сохраняло отмеченную активность [77]. Наконец, кардиопротективное действие EIPA проявлялось и в развитии мощного антиаритмического эффекта. В опытах на изолированных сердцах крыс, подвергнутых ишемии и реперфузии, EIPA дозозависимо уменьшал частоту возникновения желудочковых фибрилляций: с 92 в контроле до 83% (0,01–0,1 мкМ), 50 (1 мкМ) и 0% (10 мкМ). Причем количество сердец, сохранявших синусовый ритм в конце периода реперфузии, соответственно возрастало: с 17 до 42% (0,01 мкМ), 25 (0,1 мкМ), 89 (1 мкМ) и 100% (10 мкМ). При этом существенный кардиопротективный эффект EIPA проявлялся, даже если препарат применялся только в период реперфузии.

Здесь возникает закономерный вопрос о выборе момента введения ингибиторов NHE для достижения оптимального эффекта. А этот момент определяется максимальной активацией обменника, которая наблюдается в первые минуты и даже секунды (!) возобновления кровотока. Так что, по-видимому, максимального эффекта в опытах *in vitro* на препаратах желудочков можно ожидать при введении ингибиторов NHE в конце ишемии и в начальный период реперфузии. И действительно, значительная кардиопротективная эффективность DMA наблюдалась при его добавлении в перфузионный раствор перед окончанием ишемического периода и в первую минуту реперфузии [98]. А в условиях экспозиции изолированных кардиоцитов в растворах, моделирующих ишемию и последующую реперфузию, введение DMA в первые 3 мин «реперфузии» (но не «ишемии») приводило к выживанию $81 \pm 1\%$ клеток в сравнении с $60 \pm 1\%$ клеток в контроле [62]. Важно отметить, что в опытах на цельных сердцах введение ингибиторов NHE должно, по-видимому, начинаться раньше (перед ишемией), что связано с ограничением доставки препарата к кардиоцитам в период ишемии.

Существует еще одно условие, от которого, возможно, зависит эффективность ингибиторов NHE, и в первую очередь DMA и EIPA. Это условие — состав перфузионного раствора. Если в состав перфузата входит бикарбонат, то, как уже отмечалось ранее, подключается второй (помимо NHE) механизм ликвидации внутриклеточного ацидоза — $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ симпорт, что уменьшает значимость Na^+/H^+ обменника и может ослаблять эффективность ингибиторов NHE. Если же в качестве перфузата используется раствор, не содержащий бикарбонат, следует ожидать повышения кардиопротективных свойств этих препаратов. Отметим, что в этом вопросе сегодня единства нет. В опытах на изолированных сердцах крыс в условиях перфузии бикарбонатного буфера добавление DMA в перфузионный раствор не улучшало восстановление функции левого желудочка. При применении же кислого раствора DMA способствовал восстановлению функции ЛЖ до $56 \pm 3\%$ от предишемических значений, тогда как в контрольных сердцах этот показатель составил лишь $34 \pm 5\%$ [132]. С другой сто-

роны, в сходных экспериментах DMA и EIPA проявили высокую кардиопротективную активность как при использовании Krebs-Henseleit (с бикарбонатом), так и HEPEs (без бикарбоната) буферных растворов [31, 125]. Здесь, кстати, уместно ответить и на закономерный вопрос: не является ли опасным для клетки миокарда подавление NHE в связи с возможностью пролонгирования внутриклеточного ацидоза? По всей вероятности, эти опасения преувеличены. Как показали эксперименты на изолированных перфузируемых сердцах крыс, в условиях ингибирования NHE включаются компенсаторные механизмы борьбы с ацидозом ($\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ импорт, $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмен и др.), направленные на выравнивание pH_i и защиту клетки [124].

Кардиопротективные свойства ингибиторов NHE подтверждены и в морфологических исследованиях. Ультраструктурный анализ межжелудочковой перегородки сердца кролика, подвергнутого 60-минутной глобальной ишемии с последующей 30-минутной реперфузией, показал, что наблюдаемые повреждения миоцитов соответствуют таковым при инфаркте миокарда. Эти повреждения характеризуются развитием внутриклеточного отека, разрывами миофибрилл с потерей характерной мышечной исчерченности, набуханием и фрагментацией митохондрий. Применение DMA существенно изменяло морфологическую картину в сторону нормализации клеточной формы и структуры. Выявлялись лишь слабо и умеренно выраженный внутриклеточный отек, а также отдельные полосы контрактильности [121].

Наконец, благоприятное воздействие DMA и EIPA в отношении развития постишемического реперфузионного синдрома нашло подтверждение и в опытах *in vivo*. У свиней с открытой грудной клеткой производили окклюзию левой передней нисходящей коронарной артерии на 30 минут с последующей 180-минутной реперфузией. Это приводило к развитию инфаркта миокарда (ИМ). Размеры ИМ и его зоны риска измерялись после специального окрашивания. Кроме того, фиксировались изменения ЭКГ и монофазные потенциалы действия в ишемической зоне эпикарда. Внутривенное введение животным DMA (5 мкг/кг/мин) за 10 мин до коронарной окклюзии с продолжением введения препарата во время ишемии и реперфузии приводило к резкому уменьшению размеров ИМ до 0,4% от зоны риска. В контрольной группе животных этот показатель достигал $62 \pm 29\%$. При этом вся зона ИМ в контрольной группе, в отличие от леченных DMA животных, состояла из сплошного массива некротизированных клеток. Кроме того, в группе, получавшей DMA, происходило значительно более раннее восстановление длительности монофазных потенциалов действия в эпикарде [41]. Подобные результаты были получены при использовании EIPA в опытах *in situ* на модели региональной ишемии и реперфузии у кроликов. У анестезированных животных с открытой грудной клеткой после 30-минутной ишемии и 180-минутной реперфузии измеряли зону риска и размеры

ИМ. EIPA (0,65 мг/кг) существенно уменьшал размеры развившегося инфаркта: с $45,8 \pm 3,5\%$ от зоны риска в контроле до $10,6 \pm 3,1\%$ — в опыте [21].

Таким образом, и в экспериментах *in vitro* и *in vivo* убедительно показано благоприятное кардиопротективное действие ингибиторов NHE в условиях постишемического реперфузионного синдрома, подтвержденное на функциональном, метаболическом и морфологическом уровнях. При этом выяснилось, что эффективность препаратов в значительной степени определяется их селективностью в отношении NHE₁. Так, в экспериментах с изучением контрактильности стенки правого желудочка сердца крысы в условиях ишемии/реперфузии адекватное улучшение функции достигалось при применении амилорида в концентрации 100 мкМ. Для его селективных аналогов DMA, HMA и EIPA эта концентрация составила соответственно 10 мкМ, 2,5 мкМ и 1 мкМ [106].

Ацилгуанидиновые ингибиторы Na^+/H^+ обмена

Одновременно стали появляться ингибиторы NHE, имеющие принципиально иное химическое строение. В первую очередь следует назвать ацилгуанидиновые производные, среди которых — карипорид (HOE 642; CAS 159138-81-5) и его структурный аналог конгенер (HOE 694; CAS 149725-40-6), а также энипорид (EMD 96785) и зонипорид (CP-597, 396). Эти недавно синтезированные препараты, проявили выраженную способность селективно ингибировать NHE₁ [10, 39, 82, 151].

По своей кардиопротективной эффективности HOE 694 приблизительно соответствует DMA и EIPA, но уступает HOE 642 (карипориду). В целом ряде экспериментов показано, что эта эффективность препарата обусловлена исключительно способностью избирательно угнетать активность NHE₁, проявляется в сдвиге pH_i в кислую сторону и исчезает при отсутствии внеклеточного Na^+ [95]. При этом HOE 694 способен конкурентно взаимодействовать лишь с NHE₁ ($K_i = 0,16$ мкМ), но не с NHE₂ ($K_i = 5$ мкМ) и NHE₃ ($K_i = 650$ мкМ). Кроме того, конгенер, по-видимому, обладает более высокой селективностью в отношении NHE₁ в сравнении с аналогами амилорида. Действительно, для селективного деривата амилорида MPA K_i в отношении NHE₁ составляет 0,08 мкМ, NHE₂ — 0,5 мкМ, NHE₃ — 10 мкМ [29].

Перспективными и многообещающими выглядят первые сведения, полученные в опытах *in vitro* и *in vivo*, при изучении нового ингибитора NHE зонипорида. Данный препарат проявил способность мощно и высокоселективно ингибировать изоформу 1 Na^+/H^+ обменника. В большей степени, чем другие ацилгуанидиновые ингибиторы NHE, зонипорид ослаблял набухание тромбоцитов и накопление ^{22}Na в фибробластах, экспрессирующих NHE₁ человека. При этом эффект был зависим от концентрации [99]. В экспериментах *in vivo* зонипорид существенно уменьшал размеры инфаркта миокарда у кроликов, сердца которых подвергались

ния сократимости миокарда в сравнении с контролем [108]. В последующих опытах было показано, что описываемое действие MIA обусловлено снижением кальциевого транзита, что и обеспечивало уменьшение контрактуры клеток [149]. Аналогичное воздействие на транспорт Ca^{2+} через сарколеммную мембрану изолированных клеток желудочков крыс оказывал и другой дериват амилорида CBDMB [131].

И все же наибольшее применение в эксперименте нашли такие производные амилорида как DMA и EIPA.

На перфузируемых по Лангендорфу изолированных сердцах крыс введение в перфузат пальмитоил-L-карнитина индуцировало нарушение механической функции и изменения метаболизма в миокарде. В левом желудочке (ЛЖ) уменьшалась скорость нарастания давления и увеличивалось конечно-диастолическое давление, снижался тканевой уровень АТФ с параллельным ростом АМФ. DMA (10 или 20 мкМ/л), не влиявший до этого на функционирование интактных сердец, значительно ослаблял механические и метаболические нарушения, обусловленные пальмитоил-L-карнитином [8]. Ранее кардиопротективное действие DMA было продемонстрировано в экспериментах с использованием реперфузируемой изолированной стенки правого желудочка сердца крысы, когда добавление препарата в перфузионный раствор эффективно защищало миокард от индуцируемой ишемией/реперфузией дисфункции. При этом наблюдавшийся эффект коррелировал с уменьшением содержания в миокарде ионов Na^{+} и Ca^{2+} , а также с увеличением концентрации ионов K^{+} [105, 106, 115].

Параллельно в эксперименте было продемонстрировано существенное кардиопротективное действие EIPA. На изолированных перфузируемых по Лангендорфу сердцах новорожденных кроликов было показано, что это действие коррелирует со снижением прироста внутриклеточной концентрации Na^{+} и Ca^{2+} во время ишемии и реперфузии. Кроме того, при использовании EIPA происходило улучшение восстановления скорости нарастания давления в ЛЖ в период реперфузии: до $68,2 \pm 8,9\%$ от предишемических значений против $16,2 \pm 3,6\%$ в группе контрольных сердец. На ограничение повреждения миокарда под влиянием EIPA указывало также сохранение в клетках АТФ и уменьшение высвобождения общей креатинкиназы при реперфузии [94]. Поэтому неудивительно, что основные функциональные характеристики миокарда при применении EIPA восстанавливались в условиях возобновления коронарного тока значительно полнее. Так, аортальный выброс изолированных работающих сердец после 30- и 60-минутной ишемии в процессе реперфузии восстанавливался в контрольных экспериментах до $18,7 \pm 2,7$ и $15,7 \pm 1,8\%$ от предишемических величин соответственно. А при добавлении EIPA в перфузионный раствор (1 мкМ) этот показатель возрастал соответственно до уровня $31,4 \pm 3,3$ и

$38,9 \pm 4,4\%$. При этом добавление EIPA в период поздней ишемии сохраняло отмеченную активность [77]. Наконец, кардиопротективное действие EIPA проявлялось и в развитии мощного антиаритмического эффекта. В опытах на изолированных сердцах крыс, подвергнутых ишемии и реперфузии, EIPA дозозависимо уменьшал частоту возникновения желудочковых фибрилляций: с 92 в контроле до 83% (0,01–0,1 мкМ), 50 (1 мкМ) и 0% (10 мкМ). Причем количество сердец, сохранявших синусовый ритм в конце периода реперфузии, соответственно возрастало: с 17 до 42% (0,01 мкМ), 25 (0,1 мкМ), 89 (1 мкМ) и 100% (10 мкМ). При этом существенный кардиопротективный эффект EIPA проявлялся, даже если препарат применялся только в период реперфузии.

Здесь возникает закономерный вопрос о выборе момента введения ингибиторов NHE для достижения оптимального эффекта. А этот момент определяется максимальной активацией обменника, которая наблюдается в первые минуты и даже секунды (!) возобновления кровотока. Так что, по-видимому, максимального эффекта в опытах *in vitro* на препаратах желудочков можно ожидать при введении ингибиторов NHE в конце ишемии и в начальный период реперфузии. И действительно, значительная кардиопротективная эффективность DMA наблюдалась при его добавлении в перфузионный раствор перед окончанием ишемического периода и в первую минуту реперфузии [98]. А в условиях экспозиции изолированных кардиоцитов в растворах, моделирующих ишемию и последующую реперфузию, введение DMA в первые 3 мин «реперфузии» (но не «ишемии») приводило к выживанию $81 \pm 1\%$ клеток в сравнении с $60 \pm 1\%$ клеток в контроле [62]. Важно отметить, что в опытах на цельных сердцах введение ингибиторов NHE должно, по-видимому, начинаться раньше (перед ишемией), что связано с ограничением доставки препарата к кардиоцитам в период ишемии.

Существует еще одно условие, от которого, возможно, зависит эффективность ингибиторов NHE, и в первую очередь DMA и EIPA. Это условие — состав перфузионного раствора. Если в состав перфузата входит бикарбонат, то, как уже отмечалось ранее, подключается второй (помимо NHE) механизм ликвидации внутриклеточного ацидоза — $\text{Na}^{+}\text{-HCO}_3^{-}$ симпорт, что уменьшает значимость $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ обменника и может ослаблять эффективность ингибиторов NHE. Если же в качестве перфузата используется раствор, не содержащий бикарбонат, следует ожидать повышения кардиопротективных свойств этих препаратов. Отметим, что в этом вопросе сегодня единства нет. В опытах на изолированных сердцах крыс в условиях перфузии бикарбонатного буфера добавление DMA в перфузионный раствор не улучшало восстановление функции левого желудочка. При применении же кислого раствора DMA способствовал восстановлению функции ЛЖ до $56 \pm 3\%$ от предишемических значений, тогда как в контрольных сердцах этот показатель составил лишь $34 \pm 5\%$ [132]. С другой сто-

роны, в сходных экспериментах DMA и EIPA проявили высокую кардиопротективную активность как при использовании Krebs-Henseleit (с бикарбонатом), так и HEPES (без бикарбоната) буферных растворов [31, 125]. Здесь, кстати, уместно ответить и на закономерный вопрос: не является ли опасным для клетки миокарда подавление NHE в связи с возможностью пролонгирования внутриклеточного ацидоза? По всей вероятности, эти опасения преувеличены. Как показали эксперименты на изолированных перфузируемых сердцах крыс, в условиях ингибирования NHE включаются компенсаторные механизмы борьбы с ацидозом ($\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ симпорт, $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмен и др.), направленные на выравнивание pH_i и защиту клетки [124].

Кардиопротективные свойства ингибиторов NHE подтверждены и в морфологических исследованиях. Ультроструктурный анализ межжелудочковой перегородки сердца кролика, подвергнутого 60-минутной глобальной ишемии с последующей 30-минутной реперфузией, показал, что наблюдаемые повреждения миоцитов соответствуют таковым при инфаркте миокарда. Эти повреждения характеризуются развитием внутриклеточного отека, разрывами миофибрилл с потерей характерной мышечной исчерченности, набуханием и фрагментацией митохондрий. Применение DMA существенно изменяло морфологическую картину в сторону нормализации клеточной формы и структуры. Выявлялись лишь слабо и умеренно выраженный внутриклеточный отек, а также отдельные полосы контрактильности [121].

Наконец, благоприятное воздействие DMA и EIPA в отношении развития постишемического реперфузионного синдрома нашло подтверждение и в опытах *in vivo*. У свиней с открытой грудной клеткой производили окклюзию левой передней нисходящей коронарной артерии на 30 минут с последующей 180-минутной реперфузией. Это приводило к развитию инфаркта миокарда (ИМ). Размеры ИМ и его зоны риска измерялись после специального окрашивания. Кроме того, фиксировались изменения ЭКГ и монофазные потенциалы действия в ишемической зоне эпикарда. Внутривенное введение животным DMA (5 мг/кг/мин) за 10 мин до коронарной окклюзии с продолжением введения препарата во время ишемии и реперфузии приводило к резкому уменьшению размеров ИМ до 0,4% от зоны риска. В контрольной группе животных этот показатель достигал $62 \pm 29\%$. При этом вся зона ИМ в контрольной группе, в отличие от леченных DMA животных, состояла из сплошного массива некротизированных клеток. Кроме того, в группе, получавшей DMA, происходило значительно более раннее восстановление длительности монофазных потенциалов действия в эпикарде [41]. Подобные результаты были получены при использовании EIPA в опытах *in situ* на модели региональной ишемии и реперфузии у кроликов. У анестезированных животных с открытой грудной клеткой после 30-минутной ишемии и 180-минутной реперфузии измеряли зону риска и размеры

ИМ. EIPA (0,65 мг/кг) существенно уменьшал размеры развившегося инфаркта: с $45,8 \pm 3,5\%$ от зоны риска в контроле до $10,6 \pm 3,1\%$ — в опыте [21].

Таким образом, и в экспериментах *in vitro* и *in vivo* убедительно показано благоприятное кардиопротективное действие ингибиторов NHE в условиях постишемического реперфузионного синдрома, подтвержденное на функциональном, метаболическом и морфологическом уровнях. При этом выяснилось, что эффективность препаратов в значительной степени определяется их селективностью в отношении NHE_1 . Так, в экспериментах с изучением контрактильности стенки правого желудочка сердца крысы в условиях ишемии/реперфузии адекватное улучшение функции достигалось при применении амилорида в концентрации 100 мкМ. Для его селективных аналогов DMA, HMA и EIPA эта концентрация составила соответственно 10 мкМ, 2,5 мкМ и 1 мкМ [106].

Ацилгуанидиновые ингибиторы Na^+/H^+ обмена

Одновременно стали появляться ингибиторы NHE, имеющие принципиально иное химическое строение. В первую очередь следует назвать ацилгуанидиновые производные, среди которых — карипорид (HOE 642; CAS 159138-81-5) и его структурный аналог конгенер (HOE 694; CAS 149725-40-6), а также энипорид (EMD 96785) и зонипорид (CP-597, 396). Эти недавно синтезированные препараты, проявили выраженную способность селективно ингибировать NHE_1 [10, 39, 82, 151].

По своей кардиопротективной эффективности HOE 694 приблизительно соответствует DMA и EIPA, но уступает HOE 642 (карипориду). В целом ряде экспериментов показано, что эта эффективность препарата обусловлена исключительно способностью избирательно угнетать активность NHE_1 , проявляется в сдвиге pH_i в кислую сторону и исчезает при отсутствии внеклеточного Na^+ [95]. При этом HOE 694 способен конкурентно взаимодействовать лишь с NHE_1 ($K_i = 0,16$ мкМ), но не с NHE_2 ($K_i = 5$ мкМ) и NHE_3 ($K_i = 650$ мкМ). Кроме того, конгенер, по-видимому, обладает более высокой селективностью в отношении NHE_1 в сравнении с аналогами амилорида. Действительно, для селективного деривата амилорида MPA K_i в отношении NHE_1 составляет 0,08 мкМ, NHE_2 — 0,5 мкМ, NHE_3 — 10 мкМ [29].

Перспективными и многообещающими выглядят первые сведения, полученные в опытах *in vitro* и *in vivo*, при изучении нового ингибитора NHE зонипорида. Данный препарат проявил способность мощно и высокоселективно ингибировать изоформу 1 Na^+/H^+ обменника. В большей степени, чем другие ацилгуанидиновые ингибиторы NHE, зонипорид ослаблял набухание тромбоцитов и накопление ^{22}Na в фибробластах, экспрессирующих NHE_1 человека. При этом эффект был зависим от концентрации [99]. В экспериментах *in vivo* зонипорид существенно уменьшал размеры инфаркта миокарда у кроликов, сердца которых подвергались

ишемии и реперфузии. Причем и в данном случае он превосходил по эффективности другие препараты из этой группы [82]. Дальнейшие исследования должны подтвердить выраженность кардиопротективной эффективности зонипорида.

Сегодня же наибольшего внимания заслуживают другие, значительно более изученные ацилгуанидиновые производные, НОЕ 642 (карипорид) и EMD 96785 (энипорид). Только эти соединения, обеспечивающие выраженную кардиопротекцию в условиях постишемического реперфузионного синдрома в эксперименте, удалось довести до широкомасштабных многоцентровых клинических испытаний, в связи с чем они заслуживают отдельного рассмотрения.

Уже первые эксперименты по изучению карипориды показали его наличие у него многообещающих кардиопротективных свойств. Причем эффективность ингибирования NHE под влиянием НОЕ 642 продемонстрирована на различных моделях. Так, препарат подавлял стимулированный Na^+/H^+ обмен в эритроцитах кролика и тромбоцитах человека, а также замедлял в кардиоцитах крыс процесс восстановления от кислотной нагрузки. Кроме того, карипорид уменьшал высвобождение лактатдегидрогеназы и креатинкиназы из клеток миокарда и сохранял в них содержание гликогена, АТФ и креатинфосфата. Наряду с этим препарат проявлял выраженный антиаритмический эффект, предотвращая возникновение внеочередных сокращений, желудочковой тахикардии и желудочковых фибрилляций у крыс с искусственной ишемией. Немаловажным является отсутствие у НОЕ 642 существенного влияния на гемодинамику, и в первую очередь — на уровень артериального давления и частоту сердечных сокращений. Так что уже первые эксперименты показали перспективность данного ингибитора NHE [128].

Важно отметить, что вышеописанные эффекты карипориды охватывают как период ишемии, так и последующую реперфузию. Во время короткой ишемии (15 мин) его действие ограничивается в основном угнетением внутриклеточного накопления Na^+ без существенного влияния на pH_i . В условиях более длительной ишемии (более 30 мин), кроме уменьшения N^+ , карипорид предупреждает истощение АТФ и замедляет развитие клеточной контрактуры. В период возобновления коронарного кровотока действие препарата усиливается и заключается в угнетении скорости восстановления от внутриклеточного ацидоза, а также в более быстром и полном восстановлении уровня фосфокреатина и улучшении сократительной функции желудочков сердца. Так, на изолированных сердцах морских свинок карипорид в период реперфузии улучшал восстановление давления в левом желудочке с 16 ± 8 мм Hg в контроле до 60 ± 1 мм Hg. Конечно-диастолическое давление в ЛЖ, напротив, под влиянием НОЕ 642 снижалось [53]. Аналогичные результаты были получены и на изолированных перфузируемых сердцах крыс. При этом было четко показано, что функциональное улучшение в

период реперфузии строго коррелировало с уменьшением Ca^{2+} и с пролонгированием внутриклеточного ацидоза. Добавление в перфузат НОЕ 642 (1 мкМ/л) за 15 минут до ишемии приводило к уменьшению Ca^{2+} концу ишемического периода ($1,04 \pm 0,06$ мкМ/л против $1,84 \pm 0,02$ мкМ/л в контроле) и к снижению кальциевой перегрузки в первые 60 секунд реперфузии ($2,0 \pm 0,3$ мкМ/л против $3,2 \pm 0,3$ мкМ/л). pH_i , не изменявшийся под влиянием карипориды во время ишемии и первых 90 секунд после восстановления кровотока, к 30-й минуте реперфузии был существенно ниже, чем в контроле: $6,8 \pm 0,07$ против $7,2 \pm 0,07$. На этом фоне карипорид восстанавливал скорость нарастания давления в ЛЖ (к 30-й минуте реперфузии — до $92 \pm 3\%$ от предишемических величин против $49 \pm 7\%$ в контроле) и снижал уровень конечно-диастолического давления в ЛЖ: до 16 ± 3 мм Hg против 46 ± 5 мм Hg [138]. Подобные результаты были получены и в других экспериментах [144].

Не все исследователи однако усматривают прямую корреляцию при действии карипориды между влиянием на Ca^{2+} и pH_i в период ишемии и кардиопротекцией, фиксируемой во время восстановления кровотока. Так, при инкубировании кардиоцитов крыс в условиях аноксии и реоксигенации добавление НОЕ 642 не влияло на уровень Na^+ , Ca^{2+} и pH_i в ишемический период, но значительно снижало развитие клеточной контрактуры во время последующей «реперфузии» [125]. Кроме того, имеются сведения о резком ослаблении влияния карипориды на клеточную контрактуру в среде, содержащей бикарбонат, то есть когда эффективность Na^+/H^+ антипорта ослаблена активацией $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ котранспорта, второго пути ликвидации внутриклеточного ацидоза [118].

Кроме описанных выше благоприятных эффектов карипориды, важное значение имеют его антиаритмические свойства. В экспериментах на крысах, у которых индуцировали желудочковые фибрилляции, НОЕ 642 значительно уменьшал степень ишемической контрактуры, развивающейся во время фибрилляций, как и сопутствующее увеличение резистентности коронарных сосудов. Кроме того, сердца, получавшие карипорид, не проявляли признаков диастолической дисфункции после выхода из состояния фибрилляции и значительно быстрее восстанавливали свою систолическую функцию. Наконец, на другой экспериментальной модели, когда грудная клетка крыс подвергалась компрессии, что приводило к падению перфузионного давления и к развитию желудочковых фибрилляций, карипорид, вводившийся перед компрессией, оказывал беспрецедентный благоприятный эффект, обеспечивая быструю спонтанную дефибрилляцию после 8 минут грудной компрессии. Кроме того, у этих крыс наблюдалась значительно меньшая эктопическая активность, лучшая гемодинамика и более высокая степень выживания: 22 из 24 животных против 15 из 24 в контроле [46]. Сходные данные получены и в других исследованиях, причем в некоторых из них подавление желудочковых фибрилляций происходило при добавле-

нии карипорида в перфузионный раствор одновременно с началом реперфузии [55]. При этом антиаритмическое действие препарата по некоторым сведениям напрямую связано с уменьшением сарколеммного входа Na^+ и проявляется в большей степени, когда в перфузионном растворе отсутствует бикарбонат [45].

По мере выявления и изучения кардиопротективных свойств карипорида на различных экспериментальных моделях началось постепенное продвижение препарата к кардиологической клинике. Предварительно благоприятное действие НОЕ 642 было полностью подтверждено в многочисленных экспериментах *in vivo*.

В опытах на свиньях, сердца которых очень чувствительны к ишемии, накладывали лигатуру на левую переднюю нисходящую коронарную артерию на 60 минут после чего возобновляли кровоток и производили реперфузию на протяжении 24 часов. Части животных (группа А) внутривенно вводили карипорид в дозе 1 мг/кг через 15 минут после начала ишемического периода, другим (группа В) — через 45 минут после ограничения коронарного тока. Гистохимически (тетразольное окрашивание) и гистологически в конце эксперимента определяли размеры инфаркта миокарда. В группе А этот показатель оказался значительно меньшим (гистохимически — $32,9 \pm 21\%$; гистологически — $36,7 \pm 17,7\%$ от зоны риска), чем в группе В ($64,8 \pm 12,2$ и $67,1 \pm 15,6\%$ соответственно) или в контроле ($62,5 \pm 16,1$ и $67,8 \pm 16,3\%$ соответственно). Кроме того, в группе А выявлялась тенденция к укорочению систолы в ишемизированном регионе [80]. В других опытах, поставленных по аналогичной методике, обнаруживалось способность НОЕ 642 ослаблять контрактуру миокарда и снижать рост частоты сердечных сокращений в период ранней реперфузии. Так что карипорид на 20–25 минут пролонгировал толерантность миокарда к постишемическому реперфузионному синдрому при условии введения в период ранней ишемии [79,81]. Отметим, что кардиопротективное действие карипорида сопрягалось с замедлением внутриклеточной реалкализации и сопровождалось сохранением содержания АТФ в кардиоцитах свиней [116]. Имеются также сведения, согласно которым введение карипорида этим же животным до 55-минутной коронарной окклюзии и 5-часовой реперфузии наряду с ослаблением контрактуры миокарда предотвращало развитие реперфузионных аритмий и резко уменьшало размеры ИМ. Причем антиаритмическое действие препарата сохранялось и при его интракоронарной инфузии в зону риска в начальный период возобновления кровотока [44]. Не исключено, что антиаритмическое действие карипорида обусловлено его влиянием на длительность потенциала действия (ПД) в клетках миокарда. Известно, что во время ранней реперфузии транзиторное укорочение ПД усиливает чувствительность сердца к аритмии *re-entry*. У находящихся под наркозом свиней, подвергнутых 10-минутной окклюзии левой нисходящей коронарной арте-

рии, фиксировали укорочение продолжительности монофазного ПД, достигавшее $78,8 \pm 5,0\%$ от предишемической величины через 5 минут и $87,3 \pm 7,6\%$ — через 10 минут ишемии. К 50-ой секунде реперфузии этот показатель падал до $53,1 \pm 8,2\%$, что соответствовало продолжительности $90,1 \pm 20,2$ мсек. Внутривенное введение карипорида в дозе 3 мг/кг за 5 минут до коронарной окклюзии полностью предотвращало индуцируемое реперфузией укорочение монофазных ПД, хотя и не влияло на показатели, характерные для периода ишемии [152]. Подобно этому НОЕ 642 (1 мг/кг) в значительной степени подавлял возникновение смертельных желудочковых фибрилляций, возникающих во время реперфузии у собак (2 из 8 животных погибли в опыте и 7 из 8 — в контроле), но не влиял на появление внеочередных сокращений желудочков и вентрикулярной тахикардии, развивающихся в период ишемии [155]. Сходным образом, как показано этими же авторами, действовала та же доза карипорида и на аритмии, возникающие у крыс. Так, продолжительность желудочковой тахикардии уменьшалась в среднем с 159 ± 12 секунд в контроле до 21 ± 8 секунд в опыте; частота возникновения желудочковой тахикардии снижалась со 100 до 69%; желудочковых фибрилляций — с 89 до 0%; смертность падала с 89 до 11%. При этом частота сердечных сокращений и уровень артериального давления под влиянием препарата не изменялись. В экспериментах на кроликах карипорид уменьшал размеры ИМ, развивавшегося после 30-минутной окклюзии ножки левой коронарной артерии и 2-часовой реперфузии. Внутривенное болюсное введение НОЕ 642 дозозависимо снижало размеры ИМ ($58 \pm 6\%$ от зоны риска в контроле), начиная с дозы 0,01 мг/кг (уменьшение на 17%) и вплоть до дозы 0,3 мг/кг, когда отмеченный показатель составлял лишь $11 \pm 4\%$. Причем содержание карипорида в плазме крови обратно коррелировало с величиной инфаркта миокарда. Кроме того, значительно улучшались и показатели функции левого желудочка сердца. Интересно, что в наибольшей дозе (0,3 мг/кг) карипорид существенно уменьшал размеры ИМ (на 31%), будучи введенным всего за 5 минут до возобновления коронарного кровотока [93].

Отметим, что кардиопротективные свойства карипорида удалось продемонстрировать не только в условиях острого эксперимента на животных, но и при длительном применении. Самцам крыс Sprague-Dawley в течение недели давали НОЕ 642 с пищей из расчета 3 части на миллион. Затем крыс брали в опыт и производили окклюзию левой главной коронарной артерии на срок от 45 до 225 мин с 180-минутной реперфузией. После этого в иссеченных сердцах определяли экспрессию мРНК NHE_1 . Ишемия и реперфузия сопровождалась трехкратным увеличением этого показателя у контрольных (нелеченных) животных. Длительное использование карипорида приводило к значительному снижению экспрессии мРНК NHE_1 . Кроме того, использование НОЕ 642 снижало смертность

с 26 до 0%, уменьшало частоту возникновения желудочковых фибрилляций с 42 до 0%, вентрикулярной тахикардии с 81 до 15% и внеочередных сокращений желудочков сердца с 70 ± 12 до 17 ± 6 . Наряду с этим выявлялась тенденция к ослаблению апоптоза [61]. В другом исследовании показано, что в сходных экспериментальных условиях карипорид в значительной степени предотвращал повышение конечно-диастолического давления в ЛЖ и снижал отношение веса сердца к весу тела и веса легкого к весу тела в сравнении с животными, не получавшими препарат. В группе леченных крыс предотвращалось также увеличение длины и площади кардиоцитов и восстанавливался клеточный ответ на стимулирующее воздействие изопроterenоло. Из полученных результатов было сделано два важных вывода. Во-первых, ранний гипертрофический ответ выживших кардиоцитов, приводящий к развитию патологического ремоделирования миокарда, в значительной степени обусловлен активацией Na^+/H^+ обмена. Во-вторых, ингибирование NHE способно предотвратить развитие постинфарктного ремоделирования [160]. Интересные результаты были получены в условиях 6-недельного введения карипорида крысам. При этом экспериментальные условия различались по времени начала применения препарата: за 1 неделю до окклюзии коронарной артерии ЛЖ, а также через 30 минут, 3 часа, 24 часа и 7 дней после этой процедуры. У нелеченных (контрольных) крыс в течение 6 недель развивались инфаркт миокарда и выраженная сердечная недостаточность. Введение карипорида, начатое до- и вплоть до 24 часов после коронарной окклюзии, оказывало существенное кардиопротективное воздействие, уменьшая размеры ИМ и степень сердечной гипертрофии. При этом оптимальным сроком начала лечения оказался период между 30 минутами и 3 часами после начала ишемического периода [136]. Более длительное применение карипорида (13-15 недель) для лечения крыс с ИМ и сердечной недостаточностью, обусловленной лигированием левой главной коронарной артерии, также обеспечило развитие кардиопротективного эффекта. Так, если к окончанию эксперимента конечно-диастолическое давление в ЛЖ нелеченных крыс было увеличенным на 1225% в сравнении с предишемическим уровнем, то использование НОЕ 642 снижало этот показатель до 447%. Кроме того, карипорид существенно ослаблял развитие дилатации ЛЖ и уменьшал величину гипертрофии выживших кардиоцит [84].

Установление факта кардиопротективных свойств карипорида вызвало интерес у кардиохирургов, попытавшихся применить этот препарат в экспериментах по трансплантации сердца у животных, прежде чем он будет предложен для клинических испытаний. Как известно, во время трансплантации часто приходится иметь дело с сердцами, определенное время находящимися в условиях ишемии, а значит подвергающимися серьезным, а порой и необратимым изменениям. При-

менение карипорида преследовало цель по возможности ослабить эти изменения. Оказалось, что пересадка сердец, взятых после 30 минут нормотермической ишемии без предварительного лечения доноров дает неплохие результаты, если производится на фоне контролируемой реперфузии холодным безлейкоцитарным кардиоплегическим раствором, содержащим 1 мМ/л НОЕ 642. То есть добавление карипорида во время реперфузии улучшало посттрансплантационную функцию левого желудочка миокарда свиней [100]. В экспериментах по трансплантации сердца у собак выяснилось, что наилучшие результаты пересадки фиксируются, когда и доноры, и реципиенты предварительно получают НОЕ 642. Именно в этом случае в максимальной степени предотвращались послеоперационные осложнения со стороны миокарда. Такие сердца имели наименьшее содержание воды и не имели морфологических признаков необратимых изменений, несмотря на хранение на протяжении 24 часов [78].

По идентичной схеме, хотя и по более сжатой программе, проводилось (и проводится) изучение кардиопротективных свойств энипорид. В опытах *in vitro* с использованием овариальных клеток китайских хомяков, обогащенных изоформой 1 NHE, показана способность энипорид конкурентно ингибировать Na^+/H^+ обмен. Причем оказалось, что по селективности ингибирования NHE₁ человека энипорид значительно превосходил карипорид [39, 75]. Эффективность ингибирования NHE продемонстрирована и в экспериментах на тромбоцитах человека, и на изолируемых перфузируемых сердцах крыс, подвергнутых транзиторной ишемии и реперфузии [85].

Благоприятное действие энипорид при пост-ишемическом реперфузионном синдроме подтверждено и в опытах *in vivo*. Внутривенное введение препарата собакам (3 мг/кг) за 15 минут до начала инфузии кардиоплегического раствора предотвращало развитие отека миокарда и улучшало его функциональные возможности [30]. Важно отметить, что одновременно с влиянием на миокард, где препарат уменьшал размеры ИМ, энипорид оказывал благоприятное воздействие на функцию клеток сосудистого эндотелия. Введение препарата собакам в дозе 3 мг/кг за 15 минут до 90-минутной окклюзии коронарной артерии и 3-часовой реперфузии в значительной степени сохраняло реакцию сосудов на интракоронарную инфузию ацетилхолина в конце периода реперфузии [49]. Показано также, что предварительное внутривенное введение энипорид морским свинкам (1 мг/кг за 15 минут до извлечения сердца) с последующим его добавлением в инфузионный раствор (1 мкМ/л) перед помещением сердца на хранение в холодный кардиоплегический раствор значительно улучшало функциональные характеристики левого желудочка и уменьшало размеры ИМ во время последующей реперфузии теплым раствором [137]. Параллельно проведено фармакокинетическое изучение энипорид у человека с расчетом об-

щего клиренса, времени полужизни, объема распределения, метаболизма и экскреции препарата [83].

Приведенные экспериментальные данные, неопровержимо свидетельствующие о наличии мощного кардиопротективного действия препаратов карипорида и энипоридида у животных в условиях постишемического реперфузионного синдрома предопределили необходимость их клинических испытаний. И такие испытания были проведены.

В 1998 году в рамках программы «GUARDIAN» (GUARD During Ischemia Against Necrosis) организовано двойное слепое рандомизированное многоцентровое испытание, включившее свыше 11 500 пациентов с нестабильной стенокардией, инфарктом миокарда без увеличения интервала ST или лиц, требующих хирургических вмешательств на сердце, таких как коронарная ангиопластика. Пациентов рандомизировали по признаку применения плацебо либо трех доз карипорида (внутривенное введение 20, 80 или 120 мг каждые 8 часов). Лечение проводили в период риска между 48 часами и 7 днями. Первичная эффективность определялась по показателям смертности и развития инфаркта миокарда на протяжении 36 дней. Данные были суммированы в августе 1998 года и доложены на Американской коллегии по кардиологии в г. Новый Орлеан [38]. К сожалению, исследование не смогло достоверно задокументировать преимущество карипорида над плацебо в отношении смертности или развития ИМ. Вместе с тем применение дозы 120 мг сочеталось с 10%-ным снижением риска. Причем это снижение риска обеспечивалось за счет группы пациентов, подвергнутых ангиопластике (снижение риска на 25%), благоприятный эффект у которых сохранялся на протяжении 6 месяцев. При этом не было выявлено каких-либо существенных побочных реакций на карипорид. Так что, по мнению ряда авторов, исследование, подтверждая высокую безопасность препарата, все же указывает на важную роль ингибирования Na^+/H^+ обмена в предотвращении повреждения миокарда в условиях постишемического реперфузионного синдрома [143]. Как полагают некоторые участники испытания, карипорид представляется весьма перспективным препаратом для предупреждения реперфузионных повреждений у пациентов с острым инфарктом, которым показана прямая ангиопластика [20]. Тем более, что у большинства таких больных в условиях применения карипорида (40 мг) ряд показателей, характеризующих работу левого желудочка (фракция изгнания, конечно-систолическое давление), на 21-й день после операции показали существенное улучшение восстановления функции. На это же указывает уменьшение высвобождения из кардиоцитов ферментов, рассматриваемых как маркеры клеточного повреждения [119]. Кроме того, наибольшие проявления кардиопротекции, зафиксированные при применении 120 мг карипорида, дают основания предположить, что использованные в исследовании «GUARDIAN» дозы препарата были недостаточными для дости-

жения статистически значимого эффекта, и, учитывая нетоксичность препарата, вполне могут быть увеличены [69].

Менее оптимистичные результаты были получены по итогам международного рандомизированного клинического испытания энипоридида в рамках программы «ESCAMI». У пациентов с острым инфарктом миокарда с увеличенным интервалом ST введение препарата в дозах 50, 100, 150 и 200 мг в виде внутривенной инфузии за 15 минут до начала тромболитической реперфузионной терапии или перед первичной ангиопластикой не повлияло на такие клинические исходы заболевания как смертность, кардиогенный шок, сердечная недостаточность, жизненноопасные аритмии в сравнении с плацебо. Правда, в дозах 100 и 150 мг энипорид несколько уменьшал размеры ИМ, определяемые по кумулятивному высвобождению альфа-гидроксипутирата дегидрогеназы, особенно у больных, перенесших ангиопластику [163]. И все же сегодня ясно, что результаты оказались хуже ожидавшихся.

По-видимому, следует согласиться с мнением, согласно которому для подтверждения кардиопротективных свойств ингибиторов NHE необходимо обязательное соблюдение следующих двух условий: 1) присутствие необходимой концентрации препарата в подвергаемом риску миокарде до ишемического воздействия; 2) ишемия должна «своевременно» сменяться адекватной реперфузией. Вот почему в наибольшей степени эффективность карипорида в испытании «GUARDIAN» проявилась у пациентов, которым производилась ангиопластика. У этих больных оба условия были соблюдены. У других же больных этого удавалось достигнуть далеко не всегда [12].

Попутно заметим, что результаты доклинических испытаний карипорида, как эффективного кардиопротективного средства, обусловили интерес к этому препарату со стороны фармацевтической фирмы «Aventis Pharma» (ранее — «Hoechst Marion Roussel», HMR), которая взяла на себя обязательства по продвижению карипорида на мировой фармацевтический рынок. По первоначальному прогнозу HMR препарат должен был быть запущен в производство в 2000 году с потенциальным сбытом на уровне 750 млн DM. Затем, однако, внедрение было перенесено на период между 2003–2004 годами в связи с отсутствием статистически достоверных отличий в испытании «GUARDIAN» и необходимостью дополнительных исследований. Так что, сегодня ситуация достаточно неопределенная, а предсказанная вероятность появления препарата на рынках Европы и США в ближайшие годы составляет 70%, Японии — 50% [27].

Несмотря на это следует подчеркнуть, что определенный оптимизм сохраняется. И этому способствует активизация в последнее время работы по синтезу новых ингибиторов NHE в ряде исследовательских лабораторий крупных фармацевтических компаний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенный выше материал показывает важность и актуальность применения ингибиторов Na^+/H^+ обмена в сарколемме клеток миокарда для ослабления неблагоприятных последствий пост-ишемического реперфузионного синдрома. Развивающиеся в условиях восстановления коронарного кровотока кальциевый и кислородный парадоксы обуславливают повреждающее воздействие на миокард, усиливая контрактуру и гибель клеток и индуцируя развитие реперфузионных аритмий. В этих условиях ингибирование NHE, замедляя процесс ликвидации внутриклеточного ацидоза, предотвращает переполнение клеток ионами Na^+ и Ca^{2+} , чем обеспечивает в эксперименте значительную кардиопротекцию.

Эффективность ингибиторов NHE последовательно продемонстрирована *in vitro* с использованием большого количества экспериментальных моделей и *in vivo* на различных животных. Применение ингибиторов Na^+/H^+ обмена благоприятно воздействует на контрактильность клеток, улучшает восстановление функциональных возможностей миокарда во время реперфузии, уменьшает величину инфаркта миокарда и подавляет развитие реперфузионных аритмий. Подобный эффект в различной степени присущ целому ряду дериватов амилорида, а также ацилгуанидиновым и не-ацилгуанидиновым селективным ингибиторам NHE, некоторые из которых (карипорид, энипорид) доведены до клинических испытаний. Синтез новых ингибиторов NHE успешно решает задачу повышения активности и селективности препаратов в отношении изоформы 1 Na^+/H^+ обменника в сарколеммных мембранах миокарда. Кардиопротективная ценность ингибиторов NHE во многом определяется временем развития эффекта и зависит от начального момента их применения в период ишемии и реперфузии миокарда. Если эти периоды четко определены и поддаются регулированию, как это происходит при хирургических операциях на коронарных сосудах, эффективность ингибиторов NHE существенно возрастает.

ЛИТЕРАТУРА

- Алабовский В.В., Винокуров А.А. Влияние ионов натрия и магния на развитие «кальциевого парадокса» в сердечной мышце // *Вопр. мед. химии.*— 1995.— Т. 41, Вып. 6.— С. 23–27.
- Алабовский В.В., Дмитришук А.И., Винокуров А.А. Влияние ионного состава бескальциевой среды и повреждение кардиомиоцитов крыс при «кальциевом парадоксе» // *Российский физиол. журнал им. И.М. Сеченова.*— 1999.— Т. 85, № 2.— С. 246–254.
- Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов.— М.: Медицина, 1989.— 368 с.
- Литвицкий П.Ф., Сандриков В.А., Демуров Е.А. Адаптивные и патогенные эффекты реперфузии и реоксигенации миокарда.— М.: Медицина, 1994.— 316 с.
- Abete P., Ferrara P., Bianco S., Calabrese C., Napoli C., Cacciatore F., Ferrara N., Rengo F. Age-related effects of acidosis in isolated cardiac muscle // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*— 1998.— Vol. 53, N 1.— P. 1342–1348.
- Abiko Y., Hashizume H., Hara A. A new approach to the understanding of the mechanism of ischemia/reperfusion damage in the heart and the effects of anti-ischemic drugs // *Nippon Yakurigaku Zasshi.*— 1996.— Vol. 108, N 4.— P. 195–202.
- Alabovskii V.V., Vinokurov A.A. Amiloride decreases heart susceptibility to «calcium paradox» after total ischemia // *Fiziol. Zh.*— 1994.— Vol. 40, N 2.— P. 92–96.
- Arakawa J., Hara A. Effect of 5-(N,N-Dimethyl)-amiloride, a specific inhibitor of Na^+/H^+ exchanger, on the palmitoyl-L-carnitine-induced mechanical and metabolic derangements in the isolated perfused rat heart // *Pharmacology.*— 1999.— Vol. 59, N 5.— P. 239–248.
- Argaud L., Ovize M. Myocardial metabolism abnormalities during ischemia and reperfusion // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.*— 2000.— Vol. 93, № 1.— P. 87–90.
- Avkiran M. Rational basis for use of sodium-hydrogen exchange inhibitors in myocardial ischemia // *Am. J. Cardiol.*— 1999.— Vol. 83, N 10A.— P. 10G–17G.
- Avkiran M., Haworth R.S. Regulations of cardiac sarcolemmal Na^+/H^+ exchanger activity by endogenous ligands. Relevance to ischemia // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*— 1999.— Vol. 30, N 874.— P. 335–345.
- Avkiran M., Marber M.S. Na^+/H^+ exchange inhibitors for cardioprotective therapy: progress, problems and prospects // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 2002.— Vol. 39, N 5.— P. 747–753.
- Baron O., Saiki Y., Rebeyka I.M. pH paradox and neonatal heart // *J. Cardiovasc. Surg. (Torino).*— 2001.— Vol. 42, N 4.— P. 475–480.
- Barry W.H. Mechanisms of myocardial cell injury during ischemia and reperfusion // *J. Card. Surg.*— 1987.— Vol. 2, N 3.— P. 375–383.
- Bhojani I.H., Chapman R.A. The effect of bathing sodium ions upon the intracellular sodium activity in calcium-free media and the calcium paradox of isolated ferret ventricular muscle // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1990.— Vol. 22.— P. 507–522.
- Bkaily G., Jaalouk D., Sader S., Shbaklo H., Pothier P., Jacques D., D'Orleans-Juste P., Cragoe E.J.Jr., Bose R. Taurine indirectly increases $[\text{Ca}]_i$ by inducing Ca^{2+} influx through the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger // *Mol. Cell. Biochem.*— 1998.— Vol. 188, N 1–2.— P. 187–197.
- Bond J.M., Chacon E., Herman B., Lemasters J.J. Intracellular pH and Ca^{2+} homeostasis in the pH paradox of reperfusion injury to neonatal rat cardiac myocytes // *Am. J. Physiol.*— 1993.— Vol. 265, Pt. 1, N 1.— P. C129–C137.
- Boston D.R., Koyama T., Rodriguez Larrian J., Zou A., Su Z., Barry W.H. Effects of angiotensin II on intracellular calcium and contracture in metabolically inhibited cardiomyocytes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*— 1998.— Vol. 285, N 2.— P. 716–723.
- Brunner F., Opie L.H. Role of endothelin-A receptors in ischemic contracture and reperfusion injury // *Circulation.*— 1998.— Vol. 97, N 4.— P. 391–398.
- Buerke M., Rupprecht H.J., vom Dahl J., Terres W., Seybarth M., Schultheiss H.P., Richardt G., Sheehan F.H., Drexler H. Sodium-hydrogen exchange inhibition: novel strategy to prevent myocardial injury following ischemia and reperfusion // *Am. J. Cardiol.*— 1999.— Vol. 83, N 10A.— P. 19G–22G.
- Bugge E., Munch-Ellingsen J., Ytrehus K. Reduced infarct size in the rabbit heart *in vivo* by ethylisopropyl-amiloride. A role for Na^+/H^+ exchange // *Basic Res. Cardiol.*— 1996.— Vol. 91, N 3.— P. 203–209.

22. Burckhardt G., Di Sole F., Helmle-Kolb C. The Na^+/H^+ exchanger gene family // *J. Nephrol.*— 2002.— Vol. 15, Suppl. 5.— P. S3–S21.
23. Camillon de Hurtado M.C., Alvarez B.V., Perez N.G., Ennis I.L., Cingolani H.E. Angiotensin II activates Na^+ -independent $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange in ventricular myocardium // *Circ. Res.*— 1998.— Vol. 82, N 4.— P. 473–481.
24. Chapman R.A. A rise in intracellular sodium would seem to predispose the heart to the calcium paradox // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1990.— Vol. 22.— P. 503–505.
25. Chapman R.A., Tunstall J. The calcium paradox of the heart // *Progr. Biophys. Mol. Biol.*— 1987.— Vol. 50.— P. 67–96.
26. Chatamra K.R., Chapman R.A. The effects of sodium-calcium exchange inhibitors on protein loss associated with the calcium paradox of the isolated Langendorf perfused guinea-pig heart // *Exp. Physiol.*— 1996.— Vol. 81, N 2.— P. 203–210.
27. Chin B., Lip G.Y. Cariporide Aventis // *Curr. Opin. Investig. Drugs.*— 2000.— Vol. 1, N 3.— P. 340–346.
28. Corr P.B., Yamada K.A. Selected metabolic alterations in the ischemic heart and their contributions to arrhythmogenesis // *Herz.*— 1995.— Vol. 20, N 3.— P. 156–168.
29. Counillon L., Scholz W., Lang H.J., Pouyssegur J. Pharmacological characterization of stably transfected Na^+/H^+ antiporter isoforms using amiloride analogs and a new inhibitor exhibiting anti-ischemic properties // *Mol. Pharmacol.*— 1993.— Vol. 44, N 5.— P. 1041–1045.
30. Cox C.S.Jr., Sauer H., Allen S.J., Buja L.M., Laine G.A. Sodium/hydrogen-exchanger inhibition during cardioplegic arrest and cardiopulmonary bypass: an experimental study // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*— 2002.— Vol. 123, N 5.— P. 959–966.
31. Docherty J.C., Yang L., Pierce G.N., Deslauriers R. Na^+/H^+ exchange inhibition at reperfusion is cardioprotective during myocardial ischemia-reperfusion; ^{31}P NMR studies // *Mol. Cell. Biochem.*— 1997.— Vol. 176, N 1–2.— P. 257–264.
32. du Toit E.F., Opie L.H. Role for the Na^+/H^+ exchanger in reperfusion stunning in isolated perfused rat heart // *J. Cardiovasc. Pharmacol.*— 1993.— Vol. 22, N 6.— P. 877–883.
33. Duff H.J. Clinical and in vivo antiarrhythmic potential of sodium-hydrogen exchange inhibitors // *Cardiovasc. Res.*— 1995.— Vol. 29, N 2.— P. 189–193.
34. Eigel B.N., Hadley R.W. Contribution of the Na^+ channel and Na^+/H^+ exchanger to the anoxic rise of $[\text{Na}^+]$ in ventricular myocytes // *Am. J. Physiol.*— 1999.— Vol. 277, N 5, Pt. 2.— P. H1817–H1822.
35. Eigel B.N., Hadley R.W. Antisense inhibition of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange during anoxia/reoxygenation in ventricular myocytes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2001.— Vol. 281, N 5.— P. H2184–H2190.
36. Endoh M., Fujita S., Yang H.T., Talukder M.A., Maruya J., Norota I. Endothelin: receptor subtypes, signal transduction, regulation of Ca^{2+} transients and contractility in rabbit ventricular myocardium // *Life Sci.*— 1998.— Vol. 62, N 17–18.— P. 1485–1489.
37. Eng S., Maddford T.G., Kardami E., Pierce G.N. Protection against myocardial ischemic/reperfusion injury by inhibitors of two separate pathways of Na^+ entry // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1998.— Vol. 30, N 4.— P. 829–835.
38. Erhardt L.R. GUARD During Ischemia Against Necrosis (GUARDIAN) trial in acute coronary syndromes // *Am. J. Cardiol.*— 1999.— Vol. 83, N 10A.— P. 23G–25G.
39. Fischer H., Seelig A., Beier N., Raddatz P., Seelig J. New drugs for the Na^+/H^+ exchanger. Influence of Na^+ concentration and determination of inhibition constants with a microphysiometer // *J. Membr. Biol.*— 1999.— Vol. 168, N 1.— P. 39–45.
40. Fliegel L. Functional and cellular regulation of the myocardial Na^+/H^+ exchanger // *J. Thromb. Thrombolysis.*— 1999.— Vol. 8, N 1.— P. 9–14.
41. Fukuta M., Wakida Y., Iwa T., Uesugi M., Kobayashi T. Role of Na^+/H^+ exchange on reperfusion related myocardial injury and arrhythmias in an open-chest swine model // *Pacing Clin. Electrophysiol.*— 1996.— Vol. 19, Pt. 2, N 11.— P. 2027–2033.
42. Gailis L., Lamarche J., Boudriau S., Chahine M., Daleau P. Ethanol delays and reverses lysophosphatidylcholine-induced calcium overload in neonatal rat heart // *Pflugers Arch.*— 2001.— Vol. 443, N 1.— P. 48–53.
43. Gan X.T., Chakrabarti S., Karmazyn M. Modulation of Na^+/H^+ exchange isoform 1 mRNA expression in isolated rat hearts // *Am. J. Physiol.*— 1999.— Vol. 277, Pt. 2, N 3.— P. H993–H998.
44. Garcia-Dorado D., Ganzalez M.A., Barrabes J.A., Ruiz-Meana M., Solares J., Lidon R.M., Blanco J., Puigfel Y., Piper H.M., Soler-Soler J. Prevention of ischemic rigor contracture during coronary occlusion by inhibition of Na^+/H^+ exchange // *Cardiovasc. Res.*— 1997.— Vol. 35, N 1.— P. 80–89.
45. Gazmuri R.J., Hoffner E., Kalcheim J., Ho H., Patel M., Ayoub I.M., Epstein M., Kingston S., Han Y. Myocardial protection during ventricular fibrillation by reduction of proton-driven sarcolemmal sodium influx // *J. Lab. Clin. Med.*— 2001.— Vol. 137, N 1.— P. 43–55.
46. Gazmuri R.J., Ayoub I.M., Kolarova J.D., Karmazyn M. Myocardial protection during ventricular fibrillation by inhibition of the sodium-hydrogen exchanger isoform-1 // *Crit. Care Med.*— 2002.— Vol. 30, Suppl. 4.— P. S166–S171.
47. Goldberg A.T., Bond B.R., Mukherjee R., New R.B., Zellner J.L., Crauford E.A.Jr., Spinale F.G. Endothelin receptor pathway in human left ventricular myocytes: relation to contractility // *Ann. Thorac. Surg.*— 2000.— Vol. 69, N 3.— P. 711–715.
48. Goldhaber J.I., Qayyum M.S. Oxygen free radicals and excitation-contraction coupling // *Antioxid. Redox. Signal.*— 2000.— Vol. 2, N 1.— P. 55–64.
49. Gumina R.J., Moore J., Schelling P., Beier N., Gross G.J. Na^+/H^+ exchange inhibition prevents endothelial dysfunction after I/R injury // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2001.— Vol. 281, N 3.— P. H1260–H1266.
50. Guo H., Wasserstrom J.A., Rosenthal J.E. Effect of catecholamines on intracellular pH in sheep cardiac Purkinje fibers // *J. Physiol. (Lond.)*— 1992.— Vol. 458.— P. 289–306.
51. Hara A., Arakawa J., Xiao C.Y., Hashizume H., Ushikubi F., Abiko Y. Inhibition of Na^+ channel or Na^+/H^+ exchanger attenuates the hydrogen peroxide-induced derangements in isolated perfused rat heart // *J. Pharm. Pharmacol.*— 1999.— Vol. 51, N 9.— P. 1049–1058.
52. Harding R.J., Duncan C.J. Protection against cellular damage in the perfused rat heart by lowered pH // *Eur. J. Pharmacol.*— 1997.— Vol. 330, N 1.— P. 47–53.
53. Hartmann M., Decking U.K. Blocking Na^+/H^+ exchange by cariporide reduces Na^+ -overload in ischemia and is cardioprotective // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1999.— Vol. 31, N 11.— P. 1985–1995.
54. Hasegawa S., Nakano M., Taniguchi Y., Imai S., Murata K., Suzuki T. Effects of Na^+/H^+ exchange blocker amiloride on left ventricular remodeling after anterior myocardial infarction in rats // *Cardiovasc. Drugs Ther.*— 1995.— Vol. 9, N 6.— P. 823–826.
55. Hashimoto K. Na^+/H^+ exchange inhibitors for ischemic diseases // *Nippon Yakurigaku Zasshi.*— 2001.— Vol. 118, N 6.— P. 363–370.
56. Hashizume H., Abiko Y. Cardiac cell injury induced by lysophosphatidylcholine // *Nippon Yakurigaku Zasshi.*—

- 1999.— Vol. 114, N 5.— P. 287–293.
57. Hayashi H. Pathogenesis and the role of Ca^{2+} overload during myocardial ischemia/reperfusion // Nagoya J. Med. Sci.— 2000.— Vol. 63, N 3–4.— P. 91–98.
58. Hoque A.N., Haist J.V., Karmazyn M. Na^{+} – H^{+} exchange inhibition protects against mechanical, ultrastructural, and biochemical impairment induced by low concentrations of lysophosphatidylcholine in isolated rat hearts // Circ. Res.— 1997.— Vol. 80, N 1.— P. 95–102.
59. Hoque A.N., Karmazyn M. Effect of sodium-hydrogen exchange inhibition on functional and metabolic impairment produced by oxidative stress in the isolated heart // Can. J. Physiol. Pharmacol.— 1997.— Vol. 75, N 4.— P. 326–334.
60. Hu Y.M., Zhang Z., Xu Y.Q. Effect of lysophosphatidylcholine on the pacemaker current I (f) of sheep cardiac Purkinje fibers in ischemia-like condition // Sheng. Li. Xue. Bao.— 1997.— Vol. 49, N 5.— P. 513–520.
61. Humphreys R.A., Haist J.V., Chakrabarti S., Feng Q., Arnold J.M., Karmazyn M. Orally administered NHE1 inhibitor cariporide reduces acute responses to coronary occlusion and reperfusion // Am. J. Physiol.— 1999.— Vol. 276, N 2, Pt. 2.— P. H749–H757.
62. Hurtado C., Pierce N. Inhibition of Na^{+} /H $^{+}$ exchange at the beginning of reperfusion is cardioprotective in isolated beating adult cardiomyocytes // J. Mol. Cell. Cardiol.— 2000.— Vol. 32, N 10.— P. 1897–1907.
63. Ito N., Kagaya Y., Weinberg E.O., Barry W.H., Lorell B.H. Endothelin and angiotensin II stimulation of Na^{+} – H^{+} exchange is impaired in cardiac hypertrophy // J. Clin. Invest.— 1997.— Vol. 99, N 1.— P. 125–135.
64. Kaneko M., Matsumoto Y., Hayashi H., Kobayashi A., Yamazaki N. Oxygen free radicals and calcium homeostasis in the heart // Mol. Cell. Biochem.— 1999.— Vol. 135, N 1.— P. 99–108.
65. Karmazyn M. The 1990 Merck Frosst Award. Ischemic and reperfusion injury in the heart. Cellular mechanisms and pharmacological interventions // Can. J. Physiol. Pharmacol.— 1991.— Vol. 69, N 6.— P. 719–730.
66. Karmazyn M. The myocardial sodium-hydrogen exchanger (NHE) and its role in mediating ischemic and reperfusion injury // Keio. J. Med.— 1998.— Vol. 47, N 2.— P. 65–72.
67. Karmazyn M. Mechanisms of protection of the ischemic and reperfused myocardium by sodium-hydrogen exchange inhibition // J. Thromb. Thrombolysis.— 1999 a.— Vol. 8, N 1.— P. 33–38.
68. Karmazyn M. The role of the myocardial sodium-hydrogen exchanger in mediating ischemic and reperfusion injury. From amiloride to cariporide // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1999 b.— Vol. 874.— P. 326–334.
69. Karmazyn M. Pharmacology and clinical assessment of cariporide for the treatment coronary artery diseases // Expert Opin. Investig. Drugs.— 2000.— Vol. 9, N 5.— P. 1099–1108.
70. Karmazyn M., Ray M., Haist J.V. Comparative effects of Na^{+} /H $^{+}$ exchange inhibitors against injury produced by ischemia/reperfusion, hypoxia/reoxygenation, and the calcium paradox // J. Cardiovasc. Pharmacol.— 1993.— Vol. 21, N 1.— P. 172–178.
71. Karmazyn M., Gan X.T., Humphreys R.A., Yoshida H., Kusumoto K. The myocardial Na^{+} – H^{+} exchange: structure, regulation, and its role in heart disease // Circ. Res.— 1999.— Vol. 85, N 9.— P. 777–786.
72. Karmazyn M., Sostaric J.V., Gan X.T. The myocardial Na^{+} /H $^{+}$ exchanger: a potential therapeutic target for the prevention of myocardial ischaemic and reperfusion injury and attenuation of postinfarction heart failure // Drugs.— 2001.— Vol. 61, N 3.— P. 375–389.
73. Karwatowska-Prokopczuk E., Czarnowska E., Prokopczuk A. Combined therapy with dimethylthiourea, diltiazem and amiloride/dimethylamiloride in the ischemic/reperfused heart // Cardiovasc. Res.— 1995.— Vol. 30, N 1.— P. 70–78.
74. Karwatowska-Prokopczuk E., Nordberg J.A., Li H.L., Engler R.L., Gottlieb R.A. Effect of vacuolar proton ATPase on pH i , Ca^{2+} and apoptosis in neonatal cardiomyocytes during metabolic inhibition/recovery // Circ. Res.— 1998.— Vol. 82, N 11.— P. 1139–1144.
75. Kawamoto T., Kimura H., Kusumoto K., Fukumoto S., Shiraishi M., Watanabe T., Sawada H. Potent and selective inhibition of the human Na^{+} /H $^{+}$ exchanger isoform NHE1 by a novel aminoguanidine derivative T-162559 // Eur. J. Pharmacol.— 2001.— Vol. 420, N 1.— P. 1–8.
76. Khandoudi N., Ho J., Karmazyn M. Role of Na^{+} – H^{+} exchange in mediating effects of endothelin-1 on normal and ischemic/reperfused hearts // Circ. Res.— 1994.— Vol. 75, N 2.— P. 369–378.
77. Khandoudi N., Laville M.P., Bril A. Protective effect of the sodium/hydrogen exchange inhibitors during global low-flow ischemia // J. Cardiovasc. Pharmacol.— 1996.— Vol. 28, N 4.— P. 540–546.
78. Kim Y.I., Herijgers P., Laycock S.K., Van Lommel A., Verbeke E., Flameng W.J. Na^{+} /H $^{+}$ exchange inhibition improves long-term myocardial preservation // Ann. Thorac. Surg.— 1998.— Vol. 66, N 2.— P. 436–442.
79. Klein H.H., Bohle R.M., Pich S., Lindert-Heimberg S., Wollenweber J., Nebendahl K. Time delay of cell death by Na^{+} /H $^{+}$ -exchange-inhibition in regionally ischemic, reperfused porcine hearts // J. Cardiovasc. Pharmacol.— 1997.— Vol. 30, N 2.— P. 235–240.
80. Klein H.H., Bohle R.M., Pich S., Lindert-Heimberg S., Wollenweber J., Schade-Brittinger C., Nebendahl K. Time-dependent protection by Na^{+} /H $^{+}$ exchange inhibition in a regionally ischemic reperfused porcine heart preparation with low residual blood flow // J. Mol. Cell. Cardiol.— 1998.— Vol. 30, N 4.— P. 795–801.
81. Klein H.H., Pich S., Bohle R.M., Hindert Heimberg S., Nebendahl K. Na^{+} /H $^{+}$ exchange inhibitor cariporide attenuates cell injury predominantly during ischemia and not at onset of reperfusion in porcine hearts with low residual blood flow // Circulation.— 2000.— Vol. 102, N 16.— P. 1977–1982.
82. Knight D.R., Smith A.H., Flynn D.M., MacAndrew J.T., Ellery S.S., Kong J.X., Marala R.B., Wester R.T., Guzman-Perez A., Hill R.J., Magee W.P., Tracey W.R. A novel sodium-hydrogen exchanger inhibitor zoniporide, reduces ischemic myocardial injury in vivo and in vitro // J. Pharmacol. Exp. Ther.— 2001.— Vol. 297, N 1.— P. 254–259.
83. Kovar A., Peters T., Beier N., Derendorf H. Pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of the NHE inhibitor eniporide // J. Clin. Pharmacol.— 2001.— Vol. 41, N 2.— P. 139–148.
84. Kusumoto K., Haist J.V., Karmazyn M. Na^{+} /H $^{+}$ exchange inhibition reduces hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in rats // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.— 2001.— Vol. 280, N 2.— P. H738–H745.
85. Kusumoto K., Igata H., Abe A., Ikeda S., Tsuboi A., Imamiya E., Fukumoto S., Shiraishi M., Watanabe T. In vitro and in vivo pharmacology of a structurally novel Na^{+} – H^{+} exchange inhibitor T-162559 // Br. J. Pharmacol.— 2002.— Vol. 135, N 8.— P. 1995–2003.
86. Lagadic Gossmann D., Buckler K.J., Vaughan Jones R.D. Role of bicarbonate in pH recovery from intracellular acidosis in guinea-pig ventricular myocyte // J. Physiol. (Lond).— 1992 a.— Vol. 458.— P. 361–384.
87. Lagadic Gossmann D., Vaughan Jones R.D., Buckler K.J. Adrenaline and extracellular ATP switch between two modes of acid extrusion in the guinea-pig ventricular myocyte // J. Physiol. (Lond).— 1992 b.— Vol. 458.— P. 385–407.

88. Le Prigent K., Lagadic Gossman D., Mongodin E., Feuvray D. HCO_3^- -dependent alkalinizing transport in adult rat ventricular myocytes: characterization and modulation // *Am. J. Physiol.*— 1997.— Vol. 273, N 6, Pt. 2.— P. H2596–H2603.
89. Levitsky J., Gurell D., Frishman W.H. Sodium ion/hydrogen ion exchange inhibition: a new pharmacologic approach to myocardial ischemia and reperfusion injury // *J. Clin. Pharmacol.*— 1998.— Vol. 38, N 10.— P. 887–897.
90. Li L., van Breemen C. Na^+ – Ca^{2+} exchange in intact endothelium of rabbit cardiac valve // *Circ. Res.*— 1995.— Vol. 76, N 3.— P. 396–404.
91. Libonati J.R., Eberli F.R., Sesselberg H.W., Apstein C.S. Effects of low-flow ischemia on the positive inotropic action of angiotensin II in isolated rabbit and rat hearts // *Cardiovasc. Res.*— 1997.— Vol. 33, N 1.— P. 71–81.
92. Linakis T.G., Raymond R.M. Effect of amiloride on age-dependent cardiac dysfunction after ischemia/reperfusion in the isolated, perfused rat heart // *Shock.*— 1999.— Vol. 11, N 3.— P. 218–223.
93. Linz W., Albus U., Crause P., Jung W., Weichert A., Scholkens B.A., Scholz W., Hoechst Marion Roussel. Dose-dependent reduction of myocardial infarct mass in rabbits by the NHE-1 inhibitor cariporide (HOE 642) // *Clin. Exp. Hypertens.*— 1998.— Vol. 20, N 7.— P. 733–749.
94. Liu H., Cala P.M., Anderson S.E. Ethylisopropylamiloride diminishes changes in intracellular Na , Ca and pH in ischemic newborn myocardium // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1997.— Vol. 29, N 8.— P. 2077–2086.
95. Loh S.H., Sun B., Vaughan-Jones R.D. Effect of Hoe 694, a novel Na^+ – H^+ exchange inhibitor, on intracellular pH regulation in the guinea-pig ventricular myocyte // *Br. J. Pharmacol.*— 1996.— Vol. 118, N 8.— P. 1905–1912.
96. Loh S.H., Tsai C.S., Tsai Y., Chen W.H., Hong G.J., Wei J., Cheng T.H., Lin C.I. Hydrogen peroxide-induced intracellular acidosis and electromechanical inhibition in the diseased human ventricular myocardium // *Eur. J. Pharmacol.*— 2002.— Vol. 443, N 1–2.— P. 169–177.
97. Lu H.R., Yang P., Remeysen P., Saels A., Dai D.Z., De Clerck F. Ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in anaesthetized rats: a role of Na^+ and Ca^{2+} influx // *Eur. J. Pharmacol.*— 1999.— Vol. 365, N 2–3.— P. 233–239.
98. Maddaford T.G., Pierce G.N. Myocardial dysfunction is associated with activation of Na^+ / H^+ exchange immediately during reperfusion // *Am. J. Physiol.*— 1997.— Vol. 273, N 5, Pt. 2.— P. H2232–H2239.
99. Marala R.B., Brown J.A., Kong T.X., Tracey W.R., Knight D.R., Wester R.T., Sun D., Kennedy S.P., Hamanaka E.S., Ruggeri R.B., Hill K.J. Zoniporide: a potent and highly selective inhibitor of human Na^+ / H^+ exchanger-1 // *Eur. J. Pharmacol.*— 2002.— Vol. 451, N 1.— P. 37–41.
100. Martin J., Sarai K., Yoshitake M., Haberstroh J., Takahashi N., Lutter G., Beyersdorf F. Orthotopic transplantation of pig hearts harvested after 30 min of normothermic ischemia: controlled reperfusion with blood cardioplegia containing the Na^+ – H^+ -exchange inhibitor HOE 642 // *Eur. Cardiothorac. Surg.*— 1998.— Vol. 14, N 6.— P. 607–614.
101. Matsuda N., Mori T., Nakamura H., Shigekawa M. Mechanisms of reoxygenation-induced calcium overload in cardiac myocytes: dependence on pH // *J. Surg. Res.*— 1995.— Vol. 59, N 6.— P. 712–718.
102. McHowat J., Yamada K.A., Wu J., Yan G.X., Corr P.B. Recent insights pertaining to sarcolemmal phospholipid alterations underlying arrhythmogenesis in the ischemic heart // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*— 1993.— Vol. 4, N 3.— P. 288–310.
103. Meilzt A., Kucera P., de Ribaupierre Y., Raddatz E. Inhibition of bicarbonate transport protects embryonic heart against reoxygenation-induced dysfunction // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1998.— Vol. 30, N 2.— P. 327–335.
104. Meng H.P., Pierce G.N. Protective effects of 5-(N,N-dimethyl)amiloride on ischemia-reperfusion injury in hearts // *Am. J. Physiol.*— 1990.— Vol. 258, Pt. 2, N 5.— P. H1615–H1619.
105. Meng H., Pierce G.N. Involvement of sodium in the protective effect of 5-(N,N-dimethyl)-amiloride on ischemia-reperfusion injury in isolated rat ventricular wall // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*— 1991.— Vol. 256, N 3.— P. 1094–1100.
106. Meng H.P., Maddaford T.G., Pierce G.N. Effect of amiloride and selected analogues on postischemic recovery of cardiac contractile function // *Am. J. Physiol.*— 1993.— Vol. 264, Pt. 2, N 6.— P. H1831–H1835.
107. Mochizuki S., Jiang C. Na^+ / Ca^{2+} exchanger and myocardial ischemia/reperfusion // *Jpn. Heart J.*— 1998.— Vol. 39, N 6.— P. 707–714.
108. Moffat M.P., Karmazyn M. Protective effects of the potent Na/H exchange inhibitor methylisobutyl amiloride against post-ischemic contractile dysfunction in rat and guinea-pig hearts // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1993.— Vol. 25, N 8.— P. 959–971.
109. Mosca S.M., Cingolani H.E. The Na^+ / Ca^{2+} exchanger as responsible for myocardial stunning // *Medicina (B Aires).*— 2001.— Vol. 61, N 2.— P. 167–173.
110. Myers M.L., Farhangkhoei P., Karmazyn M. Hydrogen peroxide induced impairment of post-ischemic ventricular function is prevented by the sodium/hydrogen exchange inhibitor HOE 642 (cariporide) // *Cardiovasc. Res.*— 1998.— Vol. 40, N 2.— P. 290–296.
111. Nakamura T., Hoyashi H., Satoh H., Katoh H., Kaneko M., Terada H. A single cell model of myocardial reperfusion injury: changes in guinea pig ventricular myocytes // *Mol. Cell. Biochem.*— 1999.— Vol. 194, N 1–2.— P. 147–157.
112. Nasa Y., Hoque A.N., Ichihara K., Hashizume H. Protective effect of amiloride against reperfusion damage as evidenced by inhibition of accumulation of free fatty acids in working rat hearts // *Jpn. Circ. J.*— 1997.— Vol. 61, N 12.— P. 1021–1029.
113. Neticadan T., Yu L., Dhalla N.S., Panagia V. Palmitoyl carnitine increases intracellular calcium in adult rat cardiomyocytes // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1999.— Vol. 31, N 7.— P. 1357–1367.
114. Park S.R., Ryu G.H., Suh C.K. Cardioprotective drugs decrease the Na^+ background current // *Yonsei Med. J.*— 1995.— Vol. 36, N 3.— P. 278–286.
115. Pierce G.N., Meng H. The role of sodium-proton exchange in ischemic/reperfusion injury in the heart. Na^+ – H^+ exchange and ischemic heart disease // *Am. J. Cardiovasc. Pathol.*— 1992.— Vol. 4, N 2.— P. 91–102.
116. Portman M.A., Panos A.L., Xiao Y., Anderson D.L., Ning X. HOE-642 (cariporide) alters $\text{pH}(i)$ and diastolic function after ischemia during reperfusion in pig hearts in situ // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2001.— Vol. 280, N 2.— P. H830–H834.
117. Rubin Y., Navon G. Inhibition of sodium influx and improved preservation of rat hearts during hypothermic ischemia by furosemide and bumetanide: a ^{23}Na - and ^{31}P -NMR study // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1993.— Vol. 25, N 12.— P. 1403–1411.
118. Ruiz Meana M., Garcia Dorado D., Julia M., Inserte J., Siegmund B., Ladilov Y., Piper M., Tritto F.P., Gonzalez M.A., Soler Soler J. Protective effect of HOE 642, a selective blocker of Na^+ – H^+ exchange, against the development of rigor contracture in rat ventricular myocytes // *Exp. Physiol.*— 2000.— Vol. 85, N 1.— P. 17–25.
119. Rupprecht H.J., vom Dahl J., Terres W., Seyfarth K.M., Richardt G., Schultheis H.P., Buerke M., Shechan

- F.H., Drexler H. Cardioprotective effects of the $\text{Na}^{(+)}/\text{H}^{(+)}$ exchange inhibitor cariporide in patients with acute anterior myocardial infarction undergoing direct PTCA // *Circulation*.— 2000.— Vol. 101, N 25.— P. 2874–2876.
120. Ruzicka M., Yuan B., Leenen F.H. Blockade of $\text{AT}(1)$ receptors and $\text{Na}^{(+)}/\text{H}^{(+)}$ exchanger and LV dysfunction after myocardial infarction in rats // *Am. J. Physiol.*— 1999.— Vol. 277, N 2, Pt. 2.— P. H610–H616.
 121. Salinas P., Gil-Loyzaga P., Barrigon S. Ultrastructural evidence of the protective effect of $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchange inhibition on the in vitro damage induced by ischaemia reperfusion in the interventricular septum of the rabbit heart // *Pharmacol. Toxicol.*— 2000.— Vol. 86, N 5.— P. 222–227.
 122. Sato T., Kiyosue T., Arita M. Inhibitory effects of palmitoylcarnitine and lysophosphatidylcholine on the sodium current of cardiac ventricular cells // *Pflugers Arch.*— 1992.— Vol. 420, N 1.— P. 94–100.
 123. Satoh H., Sugiyama S., Nomura N., Terada H., Hayashi H. Importance of glycolytically derived ATP for Na^{+} loading via $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchange during metabolic inhibition in guinea pig ventricular myocytes // *Clin. Sci. (Lond.)*.— 2001.— Vol. 101, N 3.— P. 249–251.
 124. Schaefer S., Ramasamy R. Short-term inhibition of the Na-H exchanger limits acidosis and reduces ischemic injury in the rat heart // *Cardiovasc. Res.*— 1997.— Vol. 34, N 2.— P. 329–336.
 125. Schafer C., Ladilov Y.V., Schafer M., Piper H.M. Inhibition of NHE protects reoxygenated cardiomyocytes independently of anoxic $\text{Ca}^{(2+)}$ overload and acidosis // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2000 a.— Vol. 279, N 5.— P. H2143–H2150.
 126. Schafer C., Ladilov Y.V., Siegmund B., Piper H.M. Importance of bicarbonate transport for protection of cardiomyocytes against reoxygenation injury // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2000 6.— Vol. 278, N 5.— P. H1457–H1463.
 127. Scholz W., Albus U. $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchange and its inhibition in cardiac ischemia and reperfusion // *Basic Res. Cardiol.*— 1993.— Vol. 88, N 5.— P. 443–455.
 128. Scholz W., Albus U., Counillon L., Gogelein H., Lang H.J., Linz W., Weichert A., Scholkens B.A., Hoechst A.G. Protective effects of HOE 642, a selective sodium-hydrogen exchange subtype 1 inhibitor, on cardiac ischaemia and reperfusion // *Cardiovasc. Res.*— 1995.— Vol. 29, N 2.— P. 260–268.
 129. Sedlis S.P., Hom M., Sequeira J.M., Esposito R. Lysophosphatidylcholine accumulation in ischemic human myocardium // *J. Lab. Clin. Med.*— 1993.— Vol. 121, N 1.— P. 111–117.
 130. Sedlis S.P., Hom M., Sequeira J.M., Tritel M., Gindea A., Ladenson J.H., Jaffe A.S., Esposito R. Time course of lysophosphatidylcholine release from ischemic human myocardium parallels the time course of early ischemic ventricular arrhythmia // *Coron. Artery Dis.*— 1997.— Vol. 8, N 1.— P. 19–27.
 131. Sharikabad M.N., Cragoe E.J.Jr., Brors O. Inhibition by 5-N-(4-chlorobenzyl)-2',4'-dimethylbenzamil of $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchange and L-type Ca^{2+} channels in isolated cardiomyocytes // *Pharmacol. Toxicol.*— 1997.— Vol. 80, N 2.— P. 57–61.
 132. Shimada Y., Harse D.J., Avkiran M. Impact of extracellular buffer composition on cardioprotective efficacy of $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchanger inhibitors // *Am. J. Physiol.*— 1996.— Vol. 270, N 2, Pt. 2.— P. H692–H700.
 133. Smart S.C., Sagar K.B., Warltier D.C. Differential roles of myocardial Ca^{2+} channels and $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchange in myocardial reperfusion injury in open chest dogs: relative roles during ischemia and reperfusion // *Cardiovasc. Res.*— 1997.— Vol. 36, N 3.— P. 337–346.
 134. Snabaitis A.K., Yokoyama H., Avkiran M. Roles of mitochondrial-activated protein kinases and protein kinase C in $\alpha(1A)$ -adrenoceptor-mediated stimulation of sarcolemmal $\text{Na}^{+}-\text{H}^{+}$ exchanger // *Circ. Res.*— 2000.— Vol. 86, N 2.— P. 214–220.
 135. Snyder D.W., Crafford W.A.Jr., Glashow J.L., Rankin D., Sobel B.E., Corr P.B. Lysophosphoglyceridic in ischemic myocardium effluents and potentiation of their arrhythmogenic effects // *Am. J. Physiol.*— 1981.— Vol. 241, N 5.— P. H700–H707.
 136. Spitznagel H., Chung O., Xia Q., Rossius B., Illner S., Jahnichen G., Sandmann S., Reinecke A., Daemen M.J., Unger T. Cardioprotective effects of the $\text{Na}^{(+)}/\text{H}^{(+)}$ -exchange inhibitor cariporide in infarct-induced heart failure // *Cardiovasc. Res.*— 2000.— Vol. 46, N 1.— P. 102–110.
 137. Stowe D.F., Heisner J.S., An J., Varadarajan S.G., Novalija E., Chen Q., Schelling P. Inhibition of $\text{Na}^{(+)}/\text{H}^{(+)}$ isoform-1 exchange protects hearts perfused after 6-hour cardioplegic cold storage // *J. Heart Lung Transplant.*— 2002.— Vol. 21, N 3.— P. 374–382.
 138. Stromer H., de Groot M.C., Horn M., Faul C., Leupold A., Morgan J.P., Scholz W., Neubauer S. $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchange inhibition with HOE 642 improves postischemic recovery due to attenuation of $\text{Ca}^{(2+)}$ overload and prolonged acidosis on reperfusion // *Circulation*.— 2000.— Vol. 101, N 23.— P. 2749–2755.
 139. Talukder M.A., Endoh M. Pharmacological differentiation of synergistic contribution of L-type Ca^{2+} channels and $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchange to the positive inotropic effect of phenylephrine, endothelin-3 and angiotensin II in rabbit ventricular myocardium // *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*— 1997.— Vol. 355, N 1.— P. 87–96.
 140. Taniguchi Y., Nakano M., Hasegawa S., Kanda T., Imai S., Suzuki T., Kobayashi I., Nagai R. Beneficial effect of amiloride A, $\text{Na}^{+}-\text{H}^{+}$ exchanger blocker, in a murine model of dilated cardiomyopathy // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*— 1996.— Vol. 92, N 2.— P. 201–210.
 141. Tanonaka K., Takasaki A., Kajiwaru H., Takeo S. Contribution of sodium channel and sodium/hydrogen exchanger to sodium accumulation in the ischemic myocardium // *Gen. Pharmacol.*— 2000.— Vol. 34, N 3.— P. 167–174.
 142. Theroux P. Protection of the myocardial cell during ischemia // *Am. J. Cardiol.*— 1999.— Vol. 83, N 10A.— P. 3G–9G.
 143. Theroux P., Chaitman B.R., Danchin N., Erhardt L., Meinertz T., Schroeder J.S., Tognoni G., White H.D., Willerson J.T., Jessel A. Inhibition of the sodium-hydrogen exchanger with cariporide to prevent myocardial infarction in high-risk ischemic situations. Main results of the GUARDIAN trial. Guard during ischemia against necrosis (GUARDIAN) Investigators // *Circulation*.— 2000.— Vol. 102, N 25.— P. 3032–3038.
 144. Toyoda Y., Khan S., Chen W., Parker R.A., Zevitsky S., McCully J.D. Effects of NHE-1 inhibition on cardioprotection and impact on protection by K/Mg cardioplegia // *Ann. Thorac. Surg.*— 2001.— Vol. 72, N 3.— P. 836–843.
 145. Van Emous J.G., Schreur J.H., Ruigrok T.J., Van Echteld C.J. Both $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}\text{ATPase}$ and $\text{Na}^{+}-\text{H}^{+}$ exchanger are immediately active upon post-ischemic reperfusion in isolated rat hearts // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1998.— Vol. 30, N 2.— P. 337–348.
 146. Ver Donck L., Verellen G., Geerts H., Borgers M. Lysophosphatidylcholine-induced $\text{Ca}^{(2+)}$ -overload in isolated cardiomyocytes and effect of cytoprotective drugs // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1992.— Vol. 24, N 9.— P. 977–988.
 147. Wang L., Sheldon R.S., Mitchell L.B., Wyse D.G., Gillis A.M., Chiamvimonvat N., Duff H.J. Amiloride-quinidine

- interaction: adverse outcomes // *Clin. Pharmacol. Ther.*— 1994.— Vol. 56, N 6, Pt. 1.— P. 659–667.
148. Wang Q.D., Pernow J., Sjoquist P.O., Ryden L. Pharmacological possibilities for protection against myocardial reperfusion injury // *Cardiovasc. Res.*— 2002.— Vol. 55, N 1.— P. 25–37.
 149. Ward C.A., Moffat M.P. Modulation of sodium-hydrogen exchange activity in cardiac myocytes during acidosis and realkalinisation: effects on calcium, pH_i, and cell shortening // *Cardiovasc. Res.*— 1995.— Vol. 29, N 2.— P. 247–253.
 150. Watson C.L., Gold M.R. Lysophosphatidylcholine modulates cardiac I(Na) via multiple protein kinase pathways // *Circ. Res.*— 1997.— Vol. 81, N 3.— P. 387–395.
 151. Weichert A., Faber S., Jansen H.W., Scholz W., Lang H.J. Synthesis of the highly selective Na⁺/H⁺ exchange inhibitors cariporide mesilate and (3-methanesulfonyl-4-piperidino-benzoyl) guanidine methanesulfonate // *Arzneimittelforschung.*— 1997.— Vol. 47, N 11.— P. 1204–1207.
 152. Wirth K.J., Maier T., Busch A.E. NHE₁-inhibitor cariporide prevents the transient reperfusion-induced shortening of the monophasic action potential after coronary ischemia in pigs // *Basic Res. Cardiol.*— 2001.— Vol. 96, N 2.— P. 192–197.
 153. Woo S.H., Lee C.O. Effects of endothelin-1 on Ca²⁺ signaling in guinea-pig ventricular myocytes: role of protein kinase C // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1999.— Vol. 31, N 3.— P. 631–643.
 154. Xu Z., Rozanski G.J. Proton inhibition of transient outward potassium current in rat ventricular myocytes // *J. Mol. Cell. Cardiol.*— 1997.— Vol. 29, N 2.— P. 481–490.
 155. Xue Y.X., Aye N.N., Hashimoto K. Antiarrhythmic effects of HOE 642, a novel Na⁺/H⁺ exchange inhibitor, on ventricular arrhythmias in animal hearts // *Eur. J. Pharmacol.*— 1996.— Vol. 317, N 2–3.— P. 309–316.
 156. Yamada T., Takagi M., Kugimiya T., Miyagawa N., Shibata R., Hashiyada H., Yamaguchi H. Myocardial recovery during post-ischemic reperfusion: optimal concentrations of Na⁺ and Ca²⁺ in the reperfusate and protective effects of amiloride added to cardioplegic solution // *Heart Vessels.*— 1995.— Vol. 10, N 6.— P. 310–317.
 157. Yamaguchi S., Tamagawa M., Nakajima N., Nakaya H. Selective impairment of HCO₃⁻-dependent pH_i regulation by lysophosphatidylcholine in guinea pig ventricular myocardium // *Cardiovasc. Res.*— 1998.— Vol. 37, N 1.— P. 179–186.
 158. Yamauchi T., Ichikawa H., Sawa Y., Fukushima N., Kagisaki K., Maeda K., Matsuda H., Shirakura R. The contribution of Na⁺/H⁺ exchange to ischemia-reperfusion injury after hypothermic cardioplegic arrest // *Ann. Thorac. Surg.*— 1997.— Vol. 63, N 4.— P. 1107–1112.
 159. Yamazaki T., Yazaki Y. Molecular basis of cardiac hypertrophy // *Z. Kardiol.*— 2000.— Vol. 89, N 1.— P. 1–6.
 160. Yoshida H., Karmazyn M. Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ exchange inhibition attenuates hypertrophy and heart failure in 1-wk postinfarction rat myocardium // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2000.— Vol. 278, N 1.— P. H300–H304.
 161. Yoshizumi M., Kitagawa T., Masuda Y., Horike K., Ogawa Y., Suzuki Y., Tamaki T., Katoh I. Effect of amiloride on ischemia and reperfusion injury in isolated, perfused rat hearts // *Scand. Cardiovasc. J.*— 1998.— Vol. 32, N 3.— P. 167–172.
 162. Yu L., Netticadan T., Xu Y.J., Panagia Vol., Dhalla N.S. Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced increase in intracellular calcium in rat cardiomyocytes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*— 1998.— Vol. 286, N 1.— P. 1–8.
 163. Zeymer U., Suryapranata H., Monassier J.P., Opolski G., Davies J., Rasmanis G., Linssen G., Tebbe U., Schroder R., Tiemann R., Machnig T., Neuhaus K.L.; The ESCAMI Investigators. The Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ exchanger inhibitor eniporide as an adjunct to early reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Results of the evaluation of the safety and cardioprotective effects of eniporide in acute myocardial infarction (ESCAMI) trial // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 2001.— Vol. 38, N 6.— P. 1644–1650.