

Е.И. АСТАШКИН, д.б.н., профессор, М.Г. ГЛЕЗЕР, д.м.н., профессор  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

# ВЛИЯНИЕ L-КАРНИТИНА НА ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

L-карнитин (LC) и его эфиры не только участвуют в энергетическом обмене миоцитов сердца (ответственны за перенос длинноцепочечных жирных кислот из цитоплазмы в митохондрии), но и обладают другими жизненно важными видами активности. Они оказывают антиоксидантное и противовоспалительное действие на разных уровнях. Установлено, что LC является прямым антиоксидантом и удаляет уже образовавшиеся радикалы кислорода, а также подавляет генерацию радикалов кислорода цитозольными и мембрано-связанными ферментами в результате образования комплексов с ионами железа и меди в их активных центрах. Ведущей причиной защитных эффектов LC является изменение активности редокс-чувствительных сигнальных путей, мишенями действия которых выступают ядерные рецепторы (они же – факторы транскрипции генов NF- $\kappa$ B; PPARs; Nrf2, AP1 и др.). Эти факторы контролируют активность групп генов, ответственных за выживание и устойчивость клеток сердечно-сосудистой системы к воздействиям разных видов стресса, включая оксидативный стресс, а также предупреждают гибель миоцитов сердца и эндотелиальных клеток при ишемии/реперфузии и других патологических состояниях, обусловленных гипоксией. В обзоре рассматривается ряд механизмов, участвующих в защитных эффектах LC и его производных в сердце и других кислород-зависимых органах и тканях.

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистые заболевания, оксидативный стресс, L-карнитин.

E.I. ASTASHKIN, Biology Doctor, Prof., M.G. GLEZER, MD, Prof.  
Sechenov First Moscow State Medical University  
EFFECT OF L-CARNITINE ON OXYDATIVE STRESS AT CARDIOVASCULAR DISEASES

L-carnitine (LC) and its esters do not only participate in the metabolic exchange of the cardiac myocytes (they are responsible for transfer of long-chain fatty acids from the cytoplasm in mitochondria) but have other vital types of activity. They have antioxidant and anti-inflammatory effect at various levels. LC is proved to be a direct antioxidant and to remove already formed oxygen radicals as well as to suppress generation of oxygen radicals by cytoplasmic and membrane-connected ferments as a result of formation of complexes with iron and copper ions in their active centers. The leading reason of LC protective effects is change of activity of redox-sensitive signal paths targeted at nuclear receptors (they are factors of NF- $\kappa$ B; PPARs; Nrf2, AP1 etc. gene transcription). These factors control activity of a group of genes responsible for survival and stability of the cardiovascular system to various types of stress, including oxidative stress, and prevent loss of cardiac myocytes and endothelial cells at ischemia/reperfusion and other hypoxia-conditioned pathologic states. The review considers a number of mechanisms participating in protective effects of LC and its derivatives in the heart and other oxygen-dependent organs and tissues.

**Keywords:** cardiovascular diseases, oxidative stress, L-carnitine.

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы большое внимание уделяют L-карнитину (LC) –  $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -триметил аминобутировой кислоте. Этот агент участвует и регулирует многочисленные жизненно важные процессы, протекающие в организме человека [1, 2]. В основе такого интереса лежит ряд недавно обнаруженных свойств LC, а также его защитные эффекты, выявленные в условиях ишемии/реперфузии и при других видах стрессов в сердечно-сосудистой системе [3]. Установлено, что многие из таких эффектов LC связаны со снижением уровней радикалов кислорода как во внеклеточной среде и плазме крови, так и непосредственно в цитоплазме и внутриклеточных органеллах, включая митохондрии (MX), саркоплазматический ретикулум и ядро [4]. В сердце особое значение имеет влияние LC на внеклеточные радикалы кислорода, продуциру-

емые инфильтрированными фагоцитами крови, а также внутриклеточное образование радикалов кислорода, связанное с ферментативными комплексами дыхательной цепи MX кардиомиоцитов. Показано, что LC обладает свойствами прямого и опосредованного антиоксиданта, который действует на стабильные и нестабильные радикалы кислорода. Антиоксидантный и защитный эффект LC носит комплексный характер и обусловлен его способностью удалять уже образовавшиеся радикалы кислорода, выступая в качестве ловушки для таких радикалов; подавлять активность ферментов, продуцирующих радикалы кислорода (НАДФН-оксидазы (НАДФН – никотинамид аденин динуклеотид фосфат восстановленный), ксантин оксидазы); образовывать комплексы с ионами  $Fe^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ ; ингибировать спонтанное образование гидроксил радикалов из пероксида водорода (реакция Фентона); блокировать активность митохондриальной поры с транзитор-

ной проницаемостью (mPTP); сохранять структуру и активность МХ; подавлять эндогенный механизм запуска апоптоза и некроза клеток сердечно-сосудистой системы, связанный с МХ; изменять активность редокс-чувствительных внутриклеточных сигнальных путей; влиять на активность факторов транскрипции генов, контролирующей образование антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных агентов; регулировать активность защитных генов, кодирующих образование антиоксидантных белков теплового шока (HSPs), сиртуинов, тиоредоксинов) [1].

Целью данного обзора является краткий анализ новых защитных эффектов и механизмов действия LC на клетки сердечно-сосудистой системы после повреждений, вызываемых ишемией/реперфузией и при патологических состояниях, в основе которых лежит острый или хронический дефицит кислорода, оксидативный стресс и их нейтрализация LC и его производными. Разбирается способность LC выступать в качестве регулятора активности МХ. Особое внимание будет уделено влиянию LC на факторы транскрипции генов, контролирующей антиоксидантную защиту и выживаемость клеток в условиях оксидативного стресса и воспаления.

## ИСТОЧНИКИ L-КАРНИТИНА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА, ТРАНСПОРТ LC В КЛЕТКИ-МИШЕНИ И ТРАНСПОРТ АЦИЛ-КАРНИТИНА В МИТОХОНДРИИ

LC поступает в организм человека из двух источников: с пищевыми продуктами, в основном с мясом, и в результате синтеза в печени и почках, а удаляется – при разрушении бактериями толстого кишечника и фильтрацией крови через почки. Например, в сутки через почки у крыс, удаляется примерно 8% от всего содержания LC в организме. В связи с этим LC должен постоянно восполняться в результате синтеза (около 25%) и потребления мясных продуктов (в зависимости от условий – до 75%) [2]. Кроме того, поддержание уровня LC в организме человека связано с его выраженной реабсорбцией в почках.

Синтез LC в организме человека происходит с использованием незаменимых аминокислот, лизина и метионина, поступающих с продуктами питания, а также с участием ионов железа, аскорбиновой кислоты, витамина B6 и ниацина [5]. Этот процесс при неправильном питании нарушается, что сопровождается недостатком LC и различными типами карнитин-зависимых патологий.

Водорастворимый LC транспортируется из крови и внеклеточной жидкости в клетки сердца и коронарных артерий через плазматические мембраны с помощью системы натрий-зависимых переносчиков органических катионов (OCTN2). Транспорт LC происходит против собственного градиента концентрации в результате образования комплекса LC-переносчик- $\text{Na}^+$ , который использует с этой целью энергию градиента  $\text{Na}^+$  [6].

В клетках одна из главных функций LC связана с его участием в транспорте длинноцепочечных жирных кислот (ДЦ-ЖК) через внутреннюю мембрану (ВММ) в матрикс МХ. Этот механизм получил наименование «кар-

нитинный челнок» [7]. Аналогичный механизм участвует в карнитин-зависимом транспорте ДЦ-ЖК в саркоплазматический ретикулум и пероксисомы клетки, после окисления которых образовавшиеся продукты вновь поступают в МХ для окончательного их метаболизма.

## *В сердце особое значение имеет влияние LC на внеклеточные радикалы кислорода, продуцируемые инфильтрированными фагоцитами крови, а также внутриклеточное образование радикалов кислорода, связанное с ферментативными комплексами дыхательной цепи МХ кардиомиоцитов*

В матриксе МХ ДЦ-ЖК подвергаются  $\beta$ -окислению и многократно превращаются в ацетил-КоА, метаболизм которого осуществляется в цикле Кребса, где образуются высокоэнергетические соединения никотинамид аденин динуклеотид восстановленный (НАДН<sup>+</sup>) и флавин аденин динуклеотид восстановленный (ФАДН<sub>2</sub>). Последние отдают свои электроны в дыхательную цепь МХ, которая состоит из четырех ферментативных комплексов I–IV [8–10]. Следует отметить, что концентрация LC достигает самых высоких значений в кардиомиоцитах и скелетных мышцах, которые используют в качестве основных энергетических субстратов ДЦ-ЖК. Важно подчеркнуть, что в кардиомиоцитах и скелетных мышцах синтез LC не происходит, а снижение его концентрации в крови тормозит энергетический обмен, нарушает антиоксидантный статус, а также сопровождается синдромом слабости, обусловленным дефицитом LC в мышечных клетках и падением уровня аденозинтрифосфата (АТФ).

## ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Радикалы кислорода генерируются в клетках этой системы цитоплазматическими ферментами: ксантин оксидазой, разобщенными формами NO-синтазы (NOS), а также мембрано-связанными ферментативными комплексами – различными изоформами цитохромов P-450, НАДФН-оксидазным ферментативным комплексом фагоцитов, I и III комплексами дыхательной цепи МХ. Главными источниками радикалов кислорода в миокарде являются НАДФН-оксидаза, которая локализована в основном в мигрирующих фагоцитах крови – нейтрофилах, моноцитах и в тканевых макрофагах, а также МХ кардиомиоцитов. В кислород-зависимых клетках, к которым относятся кардиомиоциты, основным потребителем молекулярного кислорода являются МХ, которые используют его для окислительно-восстановительных реакций, связанных с образованием АТФ в процессе окислительного фосфорилирования. В результате переноса электронов по дыхательной цепи МХ выделяется энергия, которая расходуется на активный транспорт протонов через ВММ из матрикса в межмембранное пространство, что сопровождается образованием разности электрических потенци-

алов и градиента рН, которые используются V ферментативным комплексом – ферментом АТФ-синтетазой для транспорта протонов в МХ и синтеза АТФ. В физиологических условиях от 0,5 до 1,5% кислорода, который попадает в МХ, расходуется на одноэлектронное восстановление молекулярного кислорода на I и III ферментативных комплексах и его превращение в супероксид анион радикал. Эти радикалы играют роль внутриклеточных вторичных мессенджеров, влияющих на радикал-чувствительные ферментативные сигнальные системы, необходимые для нормальной жизнедеятельности и активности клеток [9, 10]. При ишемии генерация радикалов кислорода в МХ резко возрастает, формируется оксидативный стресс, радикалы повреждают белки, вызывают пероксидирование липидов, нарушают структуру ДНК МХ. Все это приводит в конечном итоге к нарушению структуры и падению активности МХ [11] и гибели клеток [12].

### ВЛИЯНИЕ L-КАРНИТИНА НА ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС

Влияние LC на оксидативный стресс в значительной степени зависит от используемых концентраций и продолжительности действия этого агента на клетки. В опытах *in vitro* было установлено, что высокие концентрации (10–80 мМ) LC и его производных выступали как прямые антиоксиданты [13, 14]. Они снижали уровни образовавшихся радикалов кислорода, продуцируемых в клетках различных видов, включая миоциты сердца, эндотелиальные клетки коронарных сосудов, макрофагах, мигрирующих в сердце моноцитах и нейтрофилах и других типах клеток миокарда [13]. В краткосрочных опытах более низкие концентрации LC не оказывали защитных эффектов. Позднее эти результаты были расширены в исследованиях, проведенных на других типах клеток человека, включая скелетные мышцы, эпителиальные клетки почек, гепатоциты, белки плазмы, в т. ч. липопротеины низкой плотности. В опытах *in vitro* на изолированных клетках при увеличении продолжительности воздействия были зарегистрированы антиоксидантные эффекты более низких концентраций LC. Антиоксидантные эффекты LC воспроизведены как на стабильных, длительно живущих свободных радикалах (1,1-дифенил-2-пикрилгидразила), так и на короткоживущих, нестабильных радикалах (супероксид анионы, пероксиды липидов, гидроксил радикалы) и пероксиде водорода. В этих опытах LC вел себя как ловушка радикалов и по силе защитного действия превосходил эффекты стандартных антиоксидантов (альфа-токоферола и водорастворимого аналога токоферола – тролокса) примерно в одинаковых дозах (15–30–45 мкг/мл), подавляя на 94,6, 95,4 и 97,1% образование липидных пероксидов в эмульсии линоленовой кислоты, в то время, как максимальный ингибиторный эффект для альфа-токоферола и тролокса составлял 88,8 и 86,2% соответственно [15, 16]. В этих же исследованиях было зарегистрировано связывание и образование хелатных комплексов LC с ионами железа, необходимыми для реакции Фентона, что вызывало падение уровня гидроксил радикалов. Определение антиоксидантных свойств LC (в обла-

сти концентраций 0,1–100 мкМ) при его добавлении к плазме крови на фоне действия сильного оксидативного и нитрадатовного агента – пероксинитрита (100 мкМ ONOO<sup>-</sup>) показало снижение маркеров оксидативного стресса – карбонильных групп, пероксидирования липидов (образование малонилдальдегида), суммарного падения свободных тиоловых групп белков плазмы, увеличение тиолов низкого молекулярного веса (глутатиона, цистеина и гомоцистеина), а также снижение уровня нитротирозина. Эти результаты свидетельствуют о наличии защитных эффектов в отношении белков плазмы у LC не только при оксидативном, но и нитрадатовном виде стресса [17].

В качестве прямого антиоксиданта может выступать не только LC, но и его производные, например пропионил-L-карнитин. Под влиянием фермента карнитин ацетилтрансферазы этот эфир превращается в свободный LC и пропионил-КоА (коэнзим А) в матриксе МХ, где последний подвергается β-окислению. Показано, что пропионил-L-карнитин, подобно LC, оказывает защитное действие от повреждений, вызываемых ишемией/реперфузией, которое обусловлено снижением продукции гидроксил радикалов в реакции Фентона в результате связывания ионов железа. Этот агент нейтрализует образовавшиеся супероксид анион радикалы, а также подавляет индуцированное расщепление ДНК и липопероксидирование линолевой кислоты [18]. Таким образом, LC и его производные являются ловушкой для образовавшихся радикалов кислорода, что сопровождается их разрушением и снижением их уровня (прямой антиоксидантный эффект).

***Показано, что пропионил-L-карнитин, подобно LC, оказывает защитное действие от повреждений, вызываемых ишемией/реперфузией, которое обусловлено снижением продукции гидроксил радикалов в реакции Фентона в результате связывания ионов железа***

LC не только является прямым антиоксидантом, но и опосредовано подавляет генерацию радикалов кислорода в результате образования комплексов со свободными ионами железа и меди, а также с этими катионами в каталитических центрах ферментов, продуцирующих активные формы кислорода (АФК, радикалы кислорода + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Благодаря такому эффекту LC падает активность радикал-образующих ферментов в цитоплазме клеток и в мембрано-фиксированных формах, включая МХ, саркоплазматический ретикулум, плазматические и внутриклеточные мембраны (опосредуемый антиоксидантный эффект) [13–16].

### ВЛИЯНИЕ L-КАРНИТИНА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ РЕДОКС-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ И ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ

LC влияет на внутриклеточные редокс-чувствительные сигнальные каскады и их мишени – систему факто-

ров транскрипции генов PPAR $\alpha$ , NF- $\kappa$ B и других (PPAR – рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом, NF- $\kappa$ B – ядерный фактор каппа В), через которую LC регулирует экспрессию генов, в т. ч. антиоксидантных эндогенных ферментов, тем самым усиливая защитные эффекты последних.

Один из механизмов редокс-сигнализации, на который действует LC благодаря изменению уровней АФК, – супероксид анионы, гидроксил анионы и пероксид водорода, включает окисление цистеиновых остатков сигнальных белков [19]. Чаще всего на внутриклеточные сигнальные пути влияет пероксид водорода, что связано с его физико-химическими свойствами и более продолжительным временем жизни. Пероксид водорода образуется из супероксид анионов, генерируемых в сердце, главным образом НАДФН-оксидазами фагоцитов и МХ кардиомиоцитов. В ферментах при физиологических значениях pH цистеиновые остатки находятся в форме тиолат анионов (Cys-S<sup>-</sup>), которые более чувствительны к окислению по сравнению с протонированными тиолами цистеина (Cys-SH). При редокс-сигнализации пероксид водорода окисляет анионы тиолата, при этом образуются Cys-SOH, что вызывает изменение конформации белка и его ответов на присоединение фосфатных групп под влиянием протеинкиназ сигнального каскада. Под влиянием ферментов дисульфид редуктазы тиоредоксина (Trx) и дисульфид редуктазы глутаредоксина (Grx) происходит восстановление этих групп до исходной формы Cys-S<sup>-</sup>, а белок возвращается в исходное редокс-чувствительное состояние [20-23]. Такая обратимость состояния белков лежит в основе редокс-регуляции протеинкиназ сигнальных каскадов [24].

Среди редокс-чувствительных мишеней, на которые действуют АФК, находятся два типа ключевых ферментов – протеин тирозин киназы (PTK), которые осуществляют перенос фосфатной группы (фосфорилирование) на остатки тирозина в белках сигнальных каскадов, и протеин тирозин фосфатазы (PTP), удаляющие фосфатные группы с тирозинов. Таким образом, редокс регуляция способна модулировать сигнал активации, передаваемый по каскаду как в результате прямого влияния радикалов на тирозин киназную активность (PTK), так и вследствие опосредованного изменения активности этого фермента, при влиянии радикалов на второй регуляторный фермент – тирозин фосфатазу (PTP). Например, было показано, что в сигнальном редокс-чувствительном пути, состоящим из митоген-активированных протеинкиназ (MAPK) и киназы, регулируемой внеклеточным сигналом-2 (Erk2) [сигнальный путь MAPK/ Erk2], под влиянием пероксида водорода происходит инактивация регуляторных тирозиновых фосфатаз MAPK [25], а активность Erk-2 изменяется при прямом окислении 2 из 5 остатков цистеина в этой киназе [26].

Приведенные примеры показывают, что АФК играют важную роль во внутриклеточной сигнализации, поскольку они не только контролируют длительность и усиление сигнала фосфорилирования, осуществляемого протеинкиназами данного каскада, но могут подавлять такие

сигналы при патологических состояниях, связанных с оксидативным стрессом [27].

**Один из механизмов редокс-сигнализации, на который действует LC благодаря изменению уровней АФК, – супероксид анионы, гидроксил анионы и пероксид водорода, включает окисление цистеиновых остатков сигнальных белков**

В настоящее время считается, что LC является одним из главных компонентов интегральной антиоксидантной системы. Кроме того, LC входит в систему адаптации клеток сердца и сосудов к неблагоприятным условиям и разным видам стрессов, а также влияет на внутриклеточные редокс-чувствительные сигнальные процессы, мишенью действия которых выступают ключевые факторы транскрипции генов, ответственные за активацию или ингибирование экспрессии генов, продукты которых регулируют в т. ч. состояние оксидативного стресса при хронических патологиях сердца и сосудов. Все это свидетельствует о широком круге активности LC и его производных, использование которых является одним из новых подходов регуляции активности клеток сердца и сосудов при ишемии/реперфузии и других видах стрессов [28, 29].

## ВЛИЯНИЕ LC НА ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ

В последние годы было установлено, что ведущей мишенью антиоксидантного действия LC и его эфиров с жирными кислотами являются внутриклеточные факторы транскрипции генов, к которым относятся:

- ядерный фактор  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B);
- фактор-2, связанный с эритроидным ядерным фактором (Nrf2) [Nuclear factor-erythroid-2 (NF-E2) related factor-2];
- рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом (PPARs);
- активаторный белок-1 (AP-1).

Ядерные рецепторы в неактивной форме локализуются в цитоплазме, часто в виде комплексов с различного вида ингибиторами. Под влиянием лигандов, взаимодействующих с такими рецепторами, а также в результате фосфорилирования молекул-ингибиторов, осуществляемого конечными протеинкиназами внутриклеточных редокс-чувствительных сигнальных путей, подобные факторы транскрипции генов переходят в активную форму и образует гетеродимер с другим ядерным рецептором. Гетеродимер активируется и переносится в ядро только после взаимодействия с молекулами-коактиваторами, которые могут связываться с несколькими типами ядерных рецепторов. Благодаря наличию общих коактиваторов различные ядерные рецепторы конкурируют за связывание с коактиваторами. В результате образуется сеть ядерных рецепторов, в которой активация одного типа рецепторов, связывающих коактиватор, неизбежно сказывается на активности других ядерных рецепторов.



Вследствие взаимодействия одного типа ядерных рецепторов с определенными группами генов увеличение экспрессии таких генов изменяет, стимулирует или подавляет активность других групп генов.

## ВЛИЯНИЕ LC НА ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ NRF2

Фактор транскрипции Nrf2 ответственен за адаптацию и выживание клеток в условиях стрессов [28]. Этот фактор регулирует активность генов, кодирующих цитопротективные белки, в т. ч. антиоксидантные, противовоспалительные и цитопротективные ферменты и белки, участвующие в репарации или удалении поврежденных молекул. Nrf2 играет ведущую роль в сохранении и поддержании редокс-гомеостаза клеток в результате регуляции биосинтеза, использования и регенерации глутатиона, тиоредоксина и НАДФН, а также вследствие контроля над продукцией АФК митохондриями и НАДФН-оксидазами. В физиологических условиях Nrf2 влияет на мембранный потенциал МХ, окисление жирных кислот и доступность субстратов (НАДН, ФАДН<sub>2</sub> и сукцината) для дыхательной цепи МХ и синтеза АТФ. В условиях стресса или стимуляции факторами роста активация Nrf2 влияет на увеличенное образование радикалов кислорода в МХ через усиление транскрипции белка-разобщителя-3, а также воздействия на биогенез МХ благодаря увеличению уровней ядерного дыхательного фактора-1 и коактиватора 1 $\alpha$  рецептора- $\gamma$  активируемого пролифератором пероксисом (PPAR- $\gamma$ ), а также усиления синтеза пуриновых нуклеотидов. Фармакологические активаторы Nrf2, например изотиоцианат сульфорофана (isothiocyanate sulforaphane), ингибирует оксидант-зависимое открывание мПТР и тем самым предупреждает набухание и разрушение МХ [29], а также последующую гибель клетки. Важно отметить, что по существу Nrf2 выступает в качестве сенсора оксидативного стресса в клетке. Таким образом, фактор Nrf2 ответственен за поддержание неизменности структуры и сохранение функциональной активности МХ, а его активация имеет особо важное значение для сохранения жизнедеятельности клетки при наличии стрессов.

### *Механизм активации Nrf2*

В физиологических условиях Nrf2 находится в цитоплазме клеток в неактивном состоянии благодаря образованию комплекса с его ингибитором – белком Keap-1 (Kelch like-ECH-associated protein 1 – Keap1). Такой комплекс подвергается воздействию фермента E3-лигазы, которая катализирует присоединение нескольких молекул низкомолекулярного белка убиквитина к Nrf2. В результате подобной структурной модификации, комплекс Keap-1-Nrf2 поступает на протеасому и разрушается. Nrf2 относится к короткоживущим белкам с временем жизни около 40 мин. При оксидативном стрессе тиолы цистеинов ингибиторного белка Keap-1 подвергаются окислению, что подавляет присоединение молекул убиквитина и блокирует разрушение Nrf2. Другой путь активации Nrf2 связан с его фосфорилированием по остаткам

серина и/или тирозина, что также вызывает диссоциацию комплекса Keap-1-Nrf2. Освободившийся Nrf2 образует гетеродимерный комплекс с белком Maf, который действует на регуляторную часть различных генов, кодирующих разнообразные антиоксидантные белки, тиоловые молекулы и другие протективные агенты, в т. ч. ферменты первой линии антиоксидантной защиты [30, 31].

## ЗАЩИТНЫЕ ЭФФЕКТЫ L-КАРНИТИНА, СВЯЗАННЫЕ С АКТИВНОСТЬЮ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ

Установлено, что основные протективные эффекты LC и ацетил-LC (ALC) связаны с сохранением и увеличением активности антиоксидантных ферментов и образованием восстановленного глутатиона (GSH) в тканях, подвергшихся оксидативному стрессу. В условиях *in vitro* на изолированных клетках ALC (30–100 мкМ) индуцировал активацию фактора транскрипции гем оксигеназы (HO-1) дозо- и время-зависимым образом, и такое воздействие сопровождалось увеличением экспрессии белка теплового шока-60 (HSP60), а также увеличивало выраженным образом экспрессию Nrf2 и его активацию, после которой он подвергался переносу в ядро клеток. Культивирование адипоцитов в присутствии LC и/или ALC (0,1; 1 и 10 мкМ в течение 24 ч) также характеризовалось увеличением экспрессии и активности Nrf2 (29). ALC вызывал увеличение экспрессии Nrf2 в ядрах клеток крыс, что сопровождалось снижением уровня этого фактора транскрипции в цитозоле. Более того, ALC увеличивал биогенез МХ в результате действия на ядерный фактор дыхания-1. Образование этого фактора регулируется сочетанным влиянием внеклеточных киназ (ERK) и Nrf2. LC достоверно защищал клетки от повреждений, вызываемых ишемией/реперфузией, что происходило на фоне увеличения уровня фактора транскрипции HO-1, индуцированного активацией сигнального пути с участием Nrf-2 [32]. Под влиянием LC и его производных наблюдалось изменение образования и активности других факторов транскрипции, включая NF-kB и PPARs [33].

***Вследствие взаимодействия одного типа ядерных рецепторов с определенными группами генов увеличение экспрессии таких генов изменяет, стимулирует или подавляет активность других групп генов***

Таким образом, экспериментальные данные, полученные на клетках различных тканей и органов, свидетельствуют о том, что LC и его производные влияют не только на экспрессию и активность не только фактора транскрипции Nrf2, но и других факторов транскрипции, в т. ч. NF-kB и PPARs [29].

## ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ PPARS

Рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом (PPARs), – группа ядерных рецепторов, состоящая из

трех белков: PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , PPAR $\delta/\beta$ . Все эти рецепторы селективно активируются лигандами и являются факторами транскрипции, ответственными за экспрессию определенных групп генов в результате связывания PPAR с ядерным рецептором ретиноевой кислоты (X), с последующим взаимодействием такого гетеродимера с регуляторной частью разных генов. Эти рецепторы и гены контролируют деление и дифференцировку клеток, а также активацию апоптоза. Помимо этого, PPARs участвуют в активации генов, продукты которых связаны с метаболизмом липидов и углеводов, а также с энергетическим обменом [34]. Например, PPAR $\gamma$  ответственен за обмен липидов, а PPAR $\alpha$  контролирует метаболизм ЖК в МХ кардиомиоцитов. Изменение активности этих рецепторов происходит не только под влиянием лигандов, но и в результате фосфорилирования их структур [34].

**Подавление апоптоза клеток разных видов под влиянием LC обусловлено увеличением активности PPAR $\alpha$  более чем в 5 раз.**

**Показано, что LC предупреждает апоптоз, индуцированный разными агентами, вследствие активации PPAR $\alpha$**

Таким образом, факторы транскрипции PPARs отличаются по структуре, распределению по органам и тканям, видам активности контролируемых ими генов и физиологическим ответам.

## СОЧЕТАННОЕ ВЛИЯНИЕ L-КАРНИТИНА НА ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ

На моделях лабораторных животных показано, что PPAR $\alpha$  регулирует трансмембранный транспорт и биосинтез LC в результате влияния на синтез мембранных молекул-переносчиков и ферменты синтеза [6]. В то же время молекулярные механизмы действия LC, включая антиоксидантную активность, также связаны с влиянием на PPARs: содержание PPAR $\alpha$  в ядре клеток-мишеней возрастает после воздействия LC [35].

Подавление апоптоза клеток разных видов под влиянием LC обусловлено увеличением активности PPAR $\alpha$  более чем в 5 раз. Показано, что LC предупреждает апоптоз, индуцированный разными агентами, вследствие активации PPAR $\alpha$  [36]. Помимо этого, LC регулирует метаболизм кардиомиоцитов вследствие усиления экспрессии PPAR $\alpha$  при алкогольной кардиомиопатии. Уменьшение уровня PPAR $\alpha$  наблюдалось при гипертензии у крыс, обусловленной падением уровня NO в сосудах почек. Введение LC увеличивало содержание белка PPAR $\alpha$ , возрастал уровень оксида азота и снижалось артериальное давление [37]. Защитный эффект LC носит комплексный характер и связан с увеличением содержания и активности антиоксидантных ферментов и эндотелиальной NOS, а также подавлением образования радикалов кислорода, генерируемых НАДФН-оксидазой, стимулированной AngII.

## LC, ВОСПАЛЕНИЕ И NF-KB

LC не только обладает антирадикальной, но и противовоспалительной активностью при различных патологических состояниях. Этот вид активности LC связан с его влиянием на функциональную активность провоспалительных клеток, важным этапом активации которых выступает стимуляция образования индуцибельной NOS (iNOS) – провоспалительного фермента, генерирующего большие количества радикалов NO, оказывающих цитотоксическое действие на чужеродные и собственные клетки человека.

В опытах in vitro на перевиваемых макрофагах линии RAW 264-7, стимулированных одним из наиболее сильных индукторов iNOS, – липополисахаридным эндотоксином грамотрицательных бактерий (LPS), было изучено влияние LC на образование NO и активность фактора транскрипции NF-kB, контролирующего ген iNOS. Было показано, что LC концентрационно-зависимым образом подавлял образование NO, снижал экспрессию белка iNOS и тормозил активность NF-kB. Ингибиторное влияние LC на образование белка iNOS происходило на уровне его транскрипции [37]. Кроме того, LC достоверно снижал экспрессию провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-6 и увеличивал экспрессию защитного белка PPAR $\alpha$ , а также блокировал развитие апоптоза по этому механизму [38]. Эти результаты свидетельствуют о тесной связи противовоспалительного действия LC с его способностью изменять активность факторов транскрипции NF-kB и PPARs.



**Элькар®**  
левокарнитин

**Энергетическая  
реанимация  
клеток**

Добавление Элькара к стандартной терапии:

- ✓ снижает раннюю смертность при ОИМ
- ✓ снижает объем поражения миокарда при ОИМ
- ✓ улучшает сократительную функцию ЛЖ у больных с ОКС
- ✓ оказывает антиаритмическое действие при ОКС
- ✓ повышает эффективность терапии ОКС и ОНМК ишемического типа



Элькар®  
Раствор для внутривенного  
и внутримышечного введения  
100 мг/мл  
Левокарнитин  
10 ампул по 5 мл  
СТЕРИЛЬНО  
Рег. №: ЛСР-002224/08

www.elkar.ru

пик-Фарма  
www.pikfarma.ru

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе рассмотрения приведенных результатов и публикаций можно заключить, что в основе цитопротективных эффектов LC лежит сложный комплекс процессов, связанных со снижением уровня АФК в экстремальных состояниях клеток, который обусловлен системным увеличением антиоксидантной защиты, осуществляемой на разных уровнях, по разным механизмам. LC является прямым и опосредованным антиоксидантом. LC увеличивает экспрессию, синтез и активность антиоксидантных ферментов, а также протективных агентов (GSH, сиртуины, HSPs и др.). Подавляет активность ферментов, образующих АФК, в результате связывания металлов с переменной валентностью ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ )

в их активных центрах. Прерывает и предупреждает образование АФК в цепных реакциях, выступая в качестве ловушек начальных радикалов. LC разлагает пероксиды и превращает их в неактивные, нетоксические продукты. Участвует в репарации и восстановлении поврежденных макромолекул и тем самым сохраняет жизнеспособность клеток в условиях оксидативного стресса. Центральным механизмом действия LC является его влияние на клеточную редокс-сигнализацию и совокупность факторов транскрипции генов, контролирующих антиоксидантные и противовоспалительные процессы, снижение активности которых спасает клетки сердечно-сосудистой системы от повреждений и гибели, вызываемой различными видами стрессов, включая оксидантный стресс.



## ЛИТЕРАТУРА

- Lohninger A, Pittner G, Pittner F. L-Carnitine: New Aspects of a Known Compound – A Brief Survey. *Monatsh. Chem.*, 2005; 136(8): 1255-1268.
- Surai PF. Antioxidant action of carnitine: molecular mechanisms and practical applications. *EC Veterinary Science*, 2015; 2(1): 66-84.
- Ye J, Li J, Yu Y, Wei Q, Deng W, Yu L. L-carnitine attenuates oxidant injury in HK-2 cells via ROS-mitochondria pathway. *Regulatory Peptides*, 2010, 161(1-3): 58-66.
- Tebay LE, Robertson H, Durant StT, Vitale StR, Penning TrM, Dinkova-Kostova AT, Hays JD. Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 2015, 88: 108-146.
- Seim H, Eichler K, Kleber H. L(-)-Carnitine and its precursor, gamma-butyrobetaine. In: Kramer K, Hoppe P, Packer L, eds. *Nutraceuticals in Health and Disease Prevention*. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001: 217-256.
- Todesco L, Bur D, Brooks H, Török M, Landmann L, Stieger B, Krähenbühl S. Pharmacological manipulation of L-carnitine transport into L6 cells with stable overexpression of human OCTN2. *Cell Mol Life Sci*, 2008 May, 65(10): 1596-608.
- Sharma Sh, Black StM. Carnitine homeostasis, mitochondrial function, and cardiovascular disease. *Drug Discov Today Dis Mech.*, 2009, 6(1-4): e31-e39.
- Wanders RJA, Ruiten JPN, Jlst LI, Waterham HR, Houten SM. The enzymology of mitochondrial fatty acid beta-oxidation and its application to follow-up analysis of positive neonatal screening results. *J Inherit Metab Dis.*, 2010 Oct, 33(5): 479-494.
- Асташкин Е.И., Глезер М.Г. Фармакологическая регуляция обмена энергетических субстратов в кардиомиоцитах при патологических состояниях, связанных с ишемией. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*, 2006, 5(2): 112-123. / Astashkin E.I., Glezer M.G. Pharmacological regulation of energetic substrate exchanges in cardiomyocytes at ischemia-related pathological states. *Kardiovaskulyarnaya Terapiya i Profilaktika*, 2006, 5(2): 112-123.
- Асташкин Е.И., Глезер М.Г. Роль L-карнитина в энергетическом обмене кардиомиоцитов и лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*, 2012, 6(2): 58-65. / Astashkin E.I. Glezer M.G. Role of L-carnitine in energetic exchange of cardiomyocytes and therapy of cardiovascular system diseases. *Kardiologiya i Serdechno-Sosudistaya Khirurgiya*, 2012, 6(2): 58-65.
- West AP, Shadel GS, Ghosh S. Mitochondria in innate immune responses. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, 11: 389-402.
- Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxid. Redox Signal.*, 2014, 20: 1126-1167.
- Reznick AZ, Kagan VE, Ramsey R, Tsuchiya M, Khwaja S, Serbinova EA, Packer L. Antiradical effects in L-propionyl carnitine protection of the heart against ischemia-reperfusion injury: The possible role of iron chelation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1992 August, 296(2): 394-401.
- Anderson EJ, Kypson AP, Rodriguez E, Anderson CA, Lehr EJ, Neuffer PD. Substrate-specific derangements in mitochondrial metabolism and redox balance in the atrium of the type 2 diabetic human heart. *Journal of the American College of Cardiology*, 2009, 54(20): 1891-8198.
- Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci.*, 2006 Jan 18, 78(8): 803-811.
- Solarska K, Lewińska A, Karowicz-Bilińska A, Bartosz Gr. The antioxidant properties of carnitine in vitro. *Cell and Molecular Biology Letters*, 2010, 15(1): 90-97.
- Kolodziejczyk J, Saluk-Juszczak J, Wachowicz B. L-carnitine protects plasma components against oxidative alterations. *Nutrition*, 2011, 27(6): 693-699.
- Vanella A, Russo A, Acquaviva R, Campis A, Di Giacomo C, Sorrenti V, Barcellona ML. L-Propionyl-carnitine as superoxide scavenger, antioxidant, and DNA cleavage protector. *Cell Biology and Toxicology*, April 2000, 16(20): 99-104.
- Kiley PJ, Storz G. Exploiting thiol modifications. *PLoS Biol*, 2004, 2: e400.
- Wood ZA, Poole LB, and Karplus PA. Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling. *Science*, 2003, 300: 650-653.
- Rhee S. Cell signaling. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a necessary evil for cell signaling. *Science*, 2006, 312: 1882-1883.
- Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J. Cell Biol.*, 2011, 194: 7-15.
- Finkel T. From sulfenylation to sulphydration: what a thiolate needs to tolerate. *Sci. Signal*, 2012, 5(215): pe10.
- Schieber M, Chandel NS. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Current Biology*, 2014 May 19, 24: R453-R462.
- Galli S, Antico Arciuch VG, Poderoso C, Converso DP, Zhou Q, de Kier Joffe EB, Cadenas E, Boczkowski J, Carreras MC, Poderoso JJ. Tumor cell phenotype is sustained by selective MAPK oxidation in mitochondria. *PLoS One*, 2008, 3: e2379.
- Lee YJ, Cho HN, Soh JW, Jhon GJ, Cho CK, Chung HY, Bae S, Lee SJ, Lee YS. Oxidative stress induced apoptosis is mediated by ERK1/2 phosphorylation. *Exp Cell Res.*, 2003, 291: 251-266.
- Corcoran A, Cotter TG. Redox regulation of protein kinases. *FEBS J.*, 2013 May, 280(9): 1944-1965.
- Dinkova-Kostova AT, Abramov AY. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. *Free Radic Biol Med.*, 2015 Nov, 88(Pt B): 179-88.
- Surai PF. Carnitine Enigma: From Antioxidant Action to Vitagene Regulation. Part 2. Transcription Factors and Practical Applications. *Veterinary Science*, 2015 November, 3(2): 17.
- Kasanen E, Kuosmanen SM, Leinonen H, Levenon A-L. The Keap1-Nrf2 pathway: Mechanisms of activation and dysregulation in cancer. *Redox Biology*, 2013, 1(1): 45-49.
- Uesugi Sh, Muroi M, Kondoh Y, Shiono Y, Osada H, Kimura K. Allantopyrone A activates Keap1-Nrf2 pathway and protects PC12 cells from oxidative stress-induced cell death *The Journal of Antibiotics*, 2016 August 10. doi:10.1038/ja.2016.99.
- Kui L, Jian-gang G, Yan-bo S, Si-chuan H. The antioxidation of L-carnitine on renal ischemia-reperfusion injury and its underlying mechanism. *J Modern Urology*, 2012, 3: R965.
- Buelna-Chontal M, Zazueta C. Redox activation of Nrf2 & NF-kB: a double end sword? *Cell Signal*, 2013, 25: 2548-2557.
- Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med.*, 2002, 53: 409-435.
- Kienesberger K, Pordes AG, Volk TG, Hofbauer R. PPAR- $\alpha$  agonist fenofibrate are involved in the regulation of carnitine Acetyltransferase (CrAT) mRNA levels in murine liver cells. *BMC Genomics*, 2014, 15: 514.
- Sue YM, Chou HC, Chang CC, Yang NJ, Chou Y et al. L-carnitine protects against carboplatin-mediated renal injury: AMPK and PPAR- $\alpha$  dependent inactivation of NF-AT. *PLoS One*, 2014, 9: e104079.
- Koc A, Ozkan T, Karabay AZ, Sunguroglu A, Aktan F. Effect of L-carnitine on the synthesis of nitric oxide in RAW 264-7 murine macrophage cell line. *Cell Biochem Funct.*, 2011 Dec, 29(8): 679-85.
- Jing L, Zhou LJ, Li WM, Zhang FM, Yuan L et al. Carnitine regulates myocardial metabolism by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) in alcoholic cardiomyopathy. *Med Sci Monit.*, 2011, 17: BR1-BR9.