

Apmaksāta publikācija

Meldonija kardiometabolā iedarbība, darbības mehānismi un aktivitātes biomarkēri

Maija Dambrova,

Dr.pharm., LZA akadēmiķe, RSU Farmācijas fakultātes profesore, Latvijas Organiskās sintēzes institūta Farmaceitiskās farmakoloģijas laboratorijas vadītāja

Edgars Liepiņš,

Dr.pharm., LZA korespondētājloceklis, Latvijas Organiskās sintēzes institūta Farmaceitiskās farmakoloģijas laboratorijas vadošais pētnieks

Īsumā

Meldonijs (*Mildronāts*®; 3-(2,2,2-trimetilhidrazīnija)-propionāts) tiek plaši izmantots kardiovaskulāro slimību ārstēšanai, un tā darbības mehānisms balstās uz L-karnitīna koncentrācijas samazināšanu organismā, tādējādi regulējot enerģijas metabolisma signāļus. Galvenie meldonija aktivitātes mērķproteīni ir L-karnitīna biosintēzes enzīms γ-butirotetaina hidroksilāze un organisko katjonu transportproteīns OKTN2, kuru aktivitāti meldonijs kavē. Tā kā L-karnitīns ir iesaistīts taukskābju metabolisma procesos, tā koncentrācijas samazināšanās organismā ne tikai stimulē glikozes metabolismu, bet arī samazina ar kardiometabolā slimību risku saistītos L-karnitīna metabolītu, garķežu acilkarnitīna un trimetilamīna N-oksīda līmeņus. Šajā apskatā apkopoti galvenie farmakoloģiskie efekti un mehānismi, kas pamato meldonija aktivitāti sirds mazspējas, infarkta, aritmiju, aterosklerozes un diabēta preklīniskajos pētījumos.

Farmakoloģiskā iedarbība

Meldonija kardiovaskulārā iedarbība

Vislabāk eksperimentāli raksturots ir tieši meldonija kardioprotektīvais efekts, kas tiek saistīts ar L-karnitīna līmeņa samazināšanu, tādējādi inducējot tā saukto farmakoloģiskās pielāgošanās (*preconditioning*) procesus un regulējot šūnu enerģijas metabolismu [1]. Vairāki pētījumi [2–4] apliecina meldonija efektivitāti miokarda infarkta eksperimentālajos modeļos, detalizēti raksturojot iesaistītos molekulāros mehānismus (skat. 1. attēlu). Ir pierādīts, ka ilgtermiņa meldonija uzņemšana optimizē enerģijas metabolismu un aizsargā adenozintrifosfāta (ATF) producēšanas procesus ishēmijas laikā [5, 6]. Meldonijs nozīmīgi samazina infarkta zonu izolētas žurku sirds modelī *in vitro* [2] un *in vivo* [3]. Eksperimentālā diabēta modelī, izmantojot Goto-Kakizaki žurkas, meldonijam tika pierādīts ne tikai glikozes līmeni samazinošs efekts, bet arī apstiprināta tā kardioprotektīvā aktivitāte, samazinot infarkta zonu par 30% [7]. Iedziļinoties molekulārajos mehānismos, tika konstatēts, ka meldonija izraisītā pretinfarkta aktivitāte ir tieši saistāma ar L-karnitīna daudzuma samazināšanu sirds

audos, tādējādi kavējot taukskābju transportu un aizsargājot mitohondrijus [8]. Meldonijs neietekmē hemodinamiskos parametrus ne ishēmijas epizodes laikā, ne arī pēc tās, tādējādi ļaujot secināt, ka tā infarkta zonu samazinošā aktivitāte nav saistīta ar ietekmi uz sirds funkcionālajiem parametriem [2, 8]. Tāpēc *Mildronāts* ir uzskatāms par metabolo regulatoru, ko varētu efektīvi izmantot kombinācijā ar zālēm, kas ietekmē hemodinamiskos parametrus. Eksperimentālajos pētījumos, kur meldonijs tika lietots kombinācijā ar orotskābi, kas arī saistīta ar enerģijas metabolisma regulāciju, tika novērots aditīvs pret ishēmijas-reperfūzijas bojājumu aizsargājošs efekts [4]. Tajā pašā pētījumā tika pierādīts arī meldonija un orotskābes kombinācijas antiaritmiskais efekts.

Ir pētīti meldonija lietošanas efekti uz sirds audu pārstrukturēšanos (*remodeling*) un enerģijas metabolisma procesiem sirds mazspējas modelī žurkās. Ir pierādīts, ka meldonijs samazināja sirds kreisā kambara (LV) hipertrofiju un LV beigu diastolisko spiedienu, salīdzinot ar kontroles dzīvnieku rādījumiem. Haijai (*Hayashi et al.*) veiktajā pētījumā, kur žurku modelī nekompensēta sirds mazspēja attīstījās pēc sirds infark-

ta, meldonijs palielināja dzīvildzi, samazināja ventrikulāro pārstrukturēšanos un uzlaboja sirds funkcionalitāti un enerģijas metabolisma statusu [9]. Citā pētījumā tā pati autoru grupa parādīja, ka meldonija darbības mehānisms sirds mazspējas modelī ir saistāms ar kalcija jonu plūsmu uzlabotu uzņemšanu sarkoplasmatiskajā tīklā [10]. Arī vairāki klīniskie pētījumi ir novērtējuši *Mildronāta* efektus sirds mazspējas kompleksajā terapijā. Stacenko (*Statsenko et al.*) pētījumā, kur *Mildronāts* tika pievienots bāzes terapijai pēc infarkta sirds mazspējas pacientiem, kuriem diagnosticēts arī 2. tipa diabēts, *Mildronāta* grupai novēroja izteiktāku sirds mazspējas klases samazinājumu, 6 min noietās distances garuma pieaugumu, tendenci uzlaboties diastoliskajai sirds funkcijai un kreisā kambara izviedes frakcijai [11]. Arī, pievienojot *Mildronātu* standarta terapijai hroniskas koronārās sirds slimības gadījumā, tika parādītas priekšrocības salīdzinājumā ar placebo grupu [12]. Kopumā var secināt, ka *Mildronāta* pievienošana bāzes terapijai normalizē veģetatīvo homeostāzi un uzlabo dzīves kvalitāti.

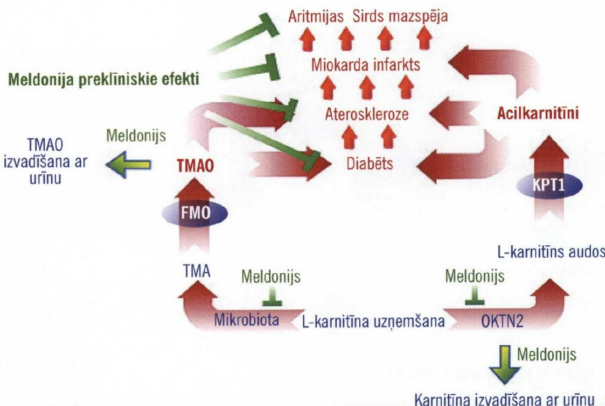
Ateroskleroze un ar to saistītās kardiovaskulārās slimības ir galvenie nāves cēloņi attīstītajās pasaules valstīs. Meldonija terapijas efekti ir pētīti eksperimentālajā aterosklerozes modelī apolipoproteīna E un zema blīvuma lipoproteīnu dubultmodificētajās (apoE/LDLR-/-) pelēs, kurām meldonijs tika ievadīts 4 mēnešu periodā. *Mildronāts* nozīmīgi un no devas atkarīgi samazināja aterosklerotisko aplikumu veidošanos un nedaudz samazināja arī brīvā holesterīna koncentrāciju [13]. Turpinot pētīt iespējamās šī efekta molekulāros mehānismus, atklājām, ka meldonijs gan dzīvniekiem, gan cilvēkiem ievērojami samazina aterosklerozes un kardiometabolā risku marķiera trimetilamīna-N-oksīda koncentrāciju asins plazmā [14, 15].

Meldonija efekti metabolā sindroma un diabēta eksperimentālajos modeļos

Diabēta pacientiem ļoti bieži ir sastopamas kardiovaskulārās komplikācijas, un tāpēc ir vispusīgi pētīti arī meldonija efekti kardiometabolajos eksperimentālajos modeļos. Kardioprotektīvu efektu radošas meldonija devas akūta vai ilgstoša ievadīšana neietekmē glikozes līmeni asinīs normāliem dzīvniekiem [16, 17], tāpēc meldonija lietošanas gadījumā hipoglikēmijas riska nav. Ir konstatēts, ka ilgstoša meldonija ievadīšana samazina patoloģiski palielinātu glikozes koncentrāciju asinīs, jo palielina ar glikozes transportu un metabolismu saistīto gēnu ekspresiju [17]. Šie rezultāti rosināja tālākus pētījumus eksperimentālajos metabolā sindroma un diabēta modeļos. Piemēram, 2. tipa diabēta eksperimentālajā Goto-Kakizaki žurku modelī meldonijs no devas atkarīgā veidā samazināja glikozes līmeni gan ēdušām žurkām, gan tukšā dūšā, turklāt nepaaugstinot insulīna līmeni [7]. Papildus tam *Mildronāta* grupas dzīvniekiem novēroja samazinātu endotēlija disfunkciju, kā arī uzlabotu neiropulsu pānesi, kas liecina par *Mildronāta* efektivitāti diabēta komplikāciju samazināšanā [7]. Arī ar streptozotocīnu izraisīta 1. tipa diabēta eksperimentālajā modelī meldonija lietošana uzlaboja glikozes toleranci un samazināja glikozes un glikētā hemoglobīna koncentrāciju asinīs, kā arī novērsa diabēta neiropātiju attīstību [18]. Šie pētījumi liecina, ka *Mildronāta* lietošana spēj samazināt hiperglikēmiju un daļēji novērst ilgstošas hiperglikēmijas izraisītās komplikācijas 1. un 2. tipa diabēta eksperimentālajos modeļos.

Meldonija metabolie efekti ir salīdzināti ar diabēta pacientiem plaši lietotā žāļu līdzekļa metformīna efektiem aptaukošanās un insulīna rezistences eksperimentālajā modelī [19]. Gan meldonijs, gan metformīns līdzīgi samazināja tukšās dūšas un postprandiālo glikozes līmeni, un abām vielām bija raksturīga tendence samazināt arī palielināto insulīna koncentrāciju Zucker līnijas žurkām. Abu vielu kombinācijai bija sinerģisks insulīna līmeni samazinošs efekts, un šīs grupas dzīvniekiem atrada arī palielinātu glikogēna koncentrāciju aknās, kas liecina par ievērojami uzlabotu insulīna jutību aknu audos. Papildus monoterapiju efektiem metformīna un meldonija kombinācija ievērojami samazināja svara pieaugumu Zucker žurkām. Kā zināms, metformīna lietošanas blakusefekts ir

1. attēls | Meldonija kardioprotektīvā un metabolā iedarbība



Kavējot organisko katjonu transportproteīnu OKT2, meldonijs samazina L-karnitīna transportu audos un veicina tā izvadīšanu no organisma ar urīnu. Samazinoties L-karnitīna koncentrācijai, samazinās karnitīna palmitoiltransferāzes 1 (KPT1) enzīma darbības rezultātā radušos garķēžu acilkarnitīnu daudzums audos. Meldonijs samazina arī mikrobiotas nodrošināto trimetilamīna (TMA) veidošanos un veicina TMA un aknu flavinmonooksigenāžu (FMO) metabolisma rezultātā trimetilamīna-N-oksīda (TMAO) izvadīšanu no organisma. Garķēžu acilkarnitīnu un TMAO koncentrāciju samazināšana nodrošina meldonija kardioprotektīvo efektu un kavē aterosklerozes un diabēta attīstības procesus organismā.

paaugstināts laktāta līmenis. Meldonijs gan monoterapijas veidā, gan kombinācijā ar metformīnu samazināja laktāta koncentrāciju plazmā, ļaujot domāt, ka meldonija izmantošana varētu novērst metformīna izraisīto laktāta acidozi. Šajā pētījumā secinājām, ka *Mildronāta* un metformīna kombinācijai ir terapeitisks potenciāls izmantošanai hiperglikēmijas un hiperlipidēmijas izraisītās insulīna rezistences gadījumā [19].

Meldonija ietekme uz enerģijas metabolismu signāļceļiem šobrīd tiek skaidrota ar acil-

karnitīnu līmeņa samazināšanu (skat. 1. un 2. attēlu), jo pēdējā laika pētījumi ir pierādījuši garķēžu acilkarnitīnu lomu insulīna rezistences un diabēta attīstībā [20]. Meldonijs ir līdz šim vienīgais klīniski izmantojamās zāles, kas samazina acilkarnitīnu līmeni, un šis molekulārais darbības mehānisms ļauj domāt, ka meldoniju varētu lietot kombinācijā ar citām diabēta ārstēšanai izmantotām zālēm, lai uzlabotu insulīna jutību.

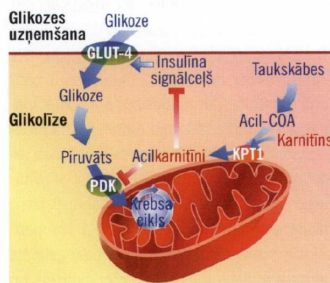
Darbības mehānismi

Meldonijs samazina L-karnitīna koncentrāciju, rezultātā tiek izmainīti šūnu enerģijas metabolismu signāļceļi. L-karnitīna koncentrācija asinīs un audos samazinās, jo meldonijs kavē L-karnitīna biosintēzes enzīma (γ -butirotatāna hidroksilāze) un organisko katjonu transportproteīna OKT2 aktivitāti, tādējādi samazinot gan L-karnitīna sintēzi no γ -butirotatāna, gan transportu (skat. 3. attēlu).

L-karnitīna biosintēzes un transporta kavēšana

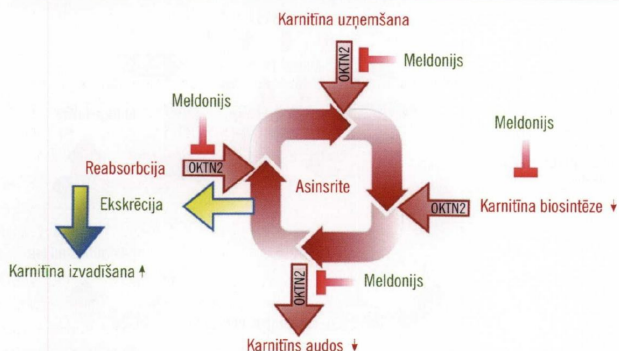
L-karnitīna biosintēzes procesā pēdējo reakciju katalizē enzīms γ -butirotatāna hidroksilāze (BBOX), kas atrodama nierēs, aknās un smadzenēs. Latvijas Organiskās sintēzes institūta zinātnieku grupa B. Simkoviča vadībā pirms 30 gadiem pierādīja, ka meldonijs kavē šī enzīma aktivitāti un

2. attēls | Garķēžu acilkarnitīnu ietekme uz glikozes metabolismu



Garķēžu acilkarnitīni samazina insulīna atkarīgo glikozes uzņemšanu šūnās (GLUT4) un kavē piruvāta metabolismu ar piruvāta dehidrogenāzes kompleksu (PDK). Meldonijs, samazinot acilkarnitīnu daudzumu audos, novērš garķēžu acilkarnitīnu kavējošos efektus.

3. attēls | Meldonijs ietekme uz L-karnitīna koncentrāciju



OKTN2 – organisko katjonu transportproteīns 2

Meldonijs kavē OKTN2 transportproteīnu un samazina karnitīna uzsūkšanos pēc uzņemšanas, samazina transportu audos, samazina reabsorbēciju nierēs un veicina karnitīna izvadīšanu ar urīnu. Kopumā meldonijs samazina karnitīna koncentrāciju asinīs un audos.

Samazina L-karnitīna (par 63,7%) un garķēžu acilkarnitīnu (par 74,3%) līmeņus [6]. Meldonijs nekavē citus L-karnitīna biosintēzes enzīmus, kā arī nemaina ne to, ne arī BBOX ekspresiju audos.

Sākotnēji meldonijs L-karnitīnu samazinošā aktivitāte tika saistīta tikai ar BBOX enzīma kavēšanu, bet vēlākie pētījumi pierādīja, ka meldonijs kavē arī L-karnitīna transportu nierēs, sirdī un citos audos [21]. Neseno parādīts, ka OKTN2 kavēšana ir efektīvākais veids karnitīna samazināšanai [22], tas nozīmē, ka arī meldonijs L-karnitīna daudzumu organismā samazina, kavējot tā ieviešanu audos un veicinot tā izvadīšanu ar urīnu (skat. 3. attēlu). Meldonijs sacenšas ar L-karnitīnu par saistīšanos un transportu ar OKTN2 [21], un meldonijs kardioprotektīvais efekts ir tieši atkarīgs no tā spējas samazināt L-karnitīna koncentrāciju asinīs un audos [8].

Ietekme uz L-karnitīna atkarīgajiem enzīmiem

Meldonijs lietošanas un L-karnitīna koncentrācijas pakāpeniskas samazināšanās laikā novērojamas adaptīvas izmaiņas šūnas un mitochondriju enerģijas metabolisma posmos. Galvenā L-karnitīna funkcija organismā ir nodrošināt garķēžu taukskābju un L-karnitīna esteru vai acilkarnitīnu transportu mitochondrijos ar karnitīna palmitoiltransferāzes 1 (KPT1) palīdzību (skat. 2. attēlu). Kaut arī meldonijs ilgstoša lietošana palielina KPT1 ekspresiju [17] un meldonijs tieši veidā neietekmē KPT1 aktivitāti, tomēr

meldonijs lietošanas rezultātā samazinātā KPT1 substrāta karnitīna daudzums būtiski samazina no KPT1 atkarīgo garķēžu taukskābju metabolismu mitochondrijos [8]. Jāpiebilst, ka meldonijs lietošana stimulē peroksisomālo un no KPT1 neatkarīgo taukskābju metabolismu mitochondrijos [5].

Ar kardiovaskulāro slimību risku pēdējā laikā tiek saistīts jauns biomarkieris, trimetilamīna-N-oksīds (TMAO), kas veidojas ar diētu uzņemtu ceturtējo amīnu, tajā skaitā arī L-karnitīna, metabolisma rezultātā [23]. Meldonijs ir vienīgā zāļu viela, kurai ir ietekme uz trimetilamīna sintēzi un TMAO izvadīšanu no organisma (skat. 1. attēlu) [14, 15].

Enerģijas metabolisma posmu regulācija

Sākotnēji tika domāts, ka meldonijs samazina taukskābju oksidāciju sirds audos [6, 24], kam ir sagaidāms kardioprotektīvs efekts. Tomēr detalizētāki mehānismi pētījumi parādīja, ka patiesībā meldonijs nemaina kopējo taukskābju metabolisma līmeni sirdī [5]. Lai gan meldonijs lietošanas rezultātā ievērojami samazinās KPT1 aktivitāte un no KPT1 atkarīgā taukskābju β oksidācija sirds mitochondrijos [8]. Kā kompensējošie mehānismi ir novēroti paaugstināts peroksisomālais taukskābju metabolisms un veicināta no KPT1 neatkarīgā taukskābju β oksidācija mitochondrijos [5], kā rezultātā kopējā taukskābju oksidācija sirdī nemainās. Ir atrasts, ka šī novērojuma molekulārais mehānisms ir saistīts ar PPARα/PGC1α

signālceļa aktivāciju [5]. Palielinoties PPARα un PGC1α saturam šūnas kodolā, intensificējas ar taukskābju oksidāciju saistīto gēnu ekspresija, aktivējas peroksisomu proliferācija, kas arī rezultējas taukskābju oksidācijas pieaugumā [5]. Rezultātā garķēžu taukskābes peroksisomās tiek metabolizētas, samazinot ķēdes garumu, un pārvēršas vidējas un īsas ķēdes metabolītos, kā, piemēram, oktanoloil-karnitīnos un acetil-karnitīnos, kas nav mitochondrijiem toksiski un ko var vienkārši metabolizēt, nepieļaujot garķēžu taukskābju atvasinājumu uzkrāšanos. Tādējādi samazinot garķēžu taukskābju transportu mitochondrijos un vienlaikus aktivējot taukskābju oksidāciju peroksisomās, mitochondriji išēmiskā sirdī tiek pasargāti no garķēžu acilkarnitīniem [5]. Jāsecina, ka meldonijs lietošanas dēļ samazinātais L-karnitīna līmenis iedarbina molekulāros mehānismus, kas aizsargā mitochondrijus no taukskābju metabolītu pārmērīgas uzkrāšanās, samazinot garķēžu acilkarnitīnu veidošanos un novirzot taukskābju metabolismu no mitochondrijiem uz peroksisomām.

Ir pētīta arī meldonijs izraisītā L-karnitīna samazinājuma ietekme uz glikozes metabolismu. Meldonijs ievadīšana kursa veidā paaugstina ar glikozes metabolismu saistīto gēnu un proteīnu ekspresijas līmeņus [17]. Piemēram, GLUT4 transportproteīna un insulīna receptora palielināta ekspresija nozīmīgi palielināja insulīna izraisīto glikozes uzņemšanu izolētā peles sirdī [17]. Piruvāta dehidrogenāzes kompleksa gēnu ekspresijas līmeņa pieaugums ar meldonijs ārstētu pelu sirdīs, kā arī samazināts laktāta līmenis išēmiskos audos liecina, ka meldonijs ievadīšana stimulē aerobo glikozes oksidāciju [17, 25].

Varam secināt, ka meldonijs iedarbības rezultātā samazinātais L-karnitīna līmenis ne tikai maina taukskābju metabolismu, bet stipulē arī glikozes metabolismu. Kopumā šie procesi nodrošina optimizētu līdzsvaru starp glikozes un taukskābju oksidāciju, kas ir ļoti vērtīgi išēmisko sirds slimību ārstēšanai. Līdz šim meldonijs stimulējošā ietekme uz glikozes metabolismu gēnu uzskaita par kompensējošu atbildes reakciju uz samazināto KPT1-atkarīgo taukskābju oksidāciju mitochondrijos [6, 17]. Tomēr aizvien jauni eksperimentālie dati liecina, ka acilkarnitīnu daudzums audos nosaka mijiedarbību starp taukskābju un glikozes metabolisma procesiem un acilkarnitīnu akumulācija izraisa insulīna rezistences attīstību [20], kas jaunā gaismā pamato arī meldonijs ietekmi uz gli-

kozes metabolisma procesiem. Ir parādīts, ka garķēžu acilkarbarnitīni kavē insulīna signālcēļu (Akt fosforilāciju) un piruvāta metabolisma [26, 27]. Tā kā meldonija samazina acilkarbarnitīnu līmeni, tieši šis varētu būt galvenais meldonija metabolais pretdiabēta aktivitātes mehānisms (skat. 2. attēlu).

Aktivitātes biomarkieri

Ilgstoša meldonija uzņemšana kursa veidā izraisa noteiktas pārmaiņas bioķīmiskajos līdzsvaros, bet L-karnitīna līmeņa samazinājums ir uzskatāms par pirmo un galveno efektu [8, 24]. Pārējās *in vivo* izmērāmās norises ir atvasinātas no šī efekta. Meldonija kardioprotektīvās aktivitātes galvenie plazmas un audu paraugos izmēriem marķieri ir L-karnitīns, garķēžu acilkarbarnitīni, TMAO.

L-karnitīns

Tā kā meldonijs ietekmē L-karnitīna biosintēzi un transportu (skat. 3. attēlu), samazināta L-karnitīna koncentrācija audu paraugos tika atrasta jau pirmajos meldonija kardioprotektīvās aktivitātes pētījumos [6]. Divas nedēļas ievadot 100 mg/kg meldonija devu, apmēram par 60% samazinās L-karnitīna koncentrācija asins plazmā, un tas ir pietiekami, lai nozīmīgi samazinātu no KPT1-atkarīgo garķēžu taukskābju transportu un oksidāciju, kā arī inducētu tam sekojošās izmaiņas enerģijas metabolisma signālcēļos un samazinātu ishēmijas izraisīto infarkta zonu eksperimentālajos pētījumos [8]. Ja vienlaikus ar meldoniju tiek ievadīts L-karnitīns, tādējādi nepieļaujot L-karnitīna līmeņa samazināšanos, meldonija kardioprotektīvais efekts netiek novērots, vēlēiz apliecinot L-karnitīna samazinājuma lomu meldonija farmakoloģiskajā efektā [8].

Preklīniskajos pētījumos parādīts, ka meldonija lietošana samazina L-karnitīna daudzumu dažādos audos, tajā skaitā žurku sirdi, aknās, sēkliniekos, smadzenēs un aortā. Ir pierādīts, ka arī cilvēkiem meldonija uzņemšana izraisa L-karnitīna koncentrācijas samazināšanos asins plazmā. Pēc 4 nedēļu kursa, uzņemot 500 mg meldonija 2 reizes dienā, vidējais plazmas L-karnitī-

na samazinājums bija 18% [28]. L-karnitīnu saturošu pārtikas produktu, īpaši gaļas, lietošana samazināja meldonija ietekmi uz L-karnitīna koncentrāciju [28]. Līdz šim L-karnitīns ir vissvarīgākais preklīniskajos pētījumos balstītais meldonija kardiometabolās aktivitātes marķieris.

Garķēžu acilkarbarnitīni

Līdzīgi kā meldonija ietekme uz L-karnitīna daudzumu, arī meldonija ietekme uz acilkarbarnitīnu saturu audos ir minēta jau pirmajos publicētajos pētījumos, kur meldonijs žurku sirds audos spēja samazināt acilkarbarnitīnu koncentrācijas par 74%, salīdzinot ar kontroli [6]. Asaka (*Asaka et al.*) atklāja, ka ishēmijas periodā garķēžu acilkarbarnitīnu daudzums sirdī septiņkārt pieaug, bet meldonija lietošana par 50% samazina šo pieaugumu [25]. Ievadot 200 mg/kg meldonija devu 6 nedēļas, garķēžu acilkarbarnitīnu koncentrācija plazmā samazinājās piecas reizes [29]. Meldonija ietekme uz acilkarbarnitīnu daudzumu ir pierādīta arī izolētas žurku sirds infarkta modelī, secinot, ka tieši garķēžu acilkarbarnitīnu daudzuma samazināšana mitohondrijos nodrošina meldonija kardioprotektīvo efektu [5]. Pēc meldonija lietošanas palmitoilkarnitīna koncentrācija bija samazināta mitohondrijos, kas izdalīti gan no ishēmiskās zonas audiem, gan kontroles audos [5]. Ņemot vērā acilkarbarnitīnu daudzuma audos regulējošo lomu enerģijas metabolisma procesos un insulīna signālcēļos, meldonija izraisītais garķēžu acilkarbarnitīnu līmeņu samazinājums ir izraisījis interesi jaunu zāļu vielu meklējumu projektiem (skat. 2. attēlu).

TMAO

TMAO ir metabolīts, kas rodas no holīna un L-karnitīna gastrointestinālā trakta mikroorganismu aizsāktā metabolisma. Pēdējo gadu pētījumi rāda, ka augstas L-karnitīna un TMAO plazmas koncentrācijas ir paaugstināta kardiovaskulāro slimību un diabēta riska marķieri pacientiem [23, 30]. Meldonijs ir līdz šim vienīgā mazmolekulārā neatbītiotiku zāļu viela, kurai klīniski ir parādīts TMAO līmeņu samazinājošais efekts, palielinot tā izvadīšanu no organisma. Pētījumā ar

veseliem brīvprātīgajiem tika parādīts, ka, 7 dienas uzņemot pārtikā ar trimetilamīnu un TMAO bagātus produktus, var palielināt plazmas TMAO koncentrāciju 16 reizes. Meldonija uzņemšana kopā ar minēto diētu ievērojami samazināja TMAO koncentrāciju asinīs [14]. Vēlāk tika izpētīts, ka meldonijs nozīmīgi samazina gastrointestinālās sistēmas mikrobiotas TMA/TMAO produkcānu no L-karnitīna, bet konkrēts molekulārais mērķis meldonija aktivitātei vēl nav atrasts [15], tomēr zināms, ka tas nav saistīts ar meldonija kavējošo aktivitāti uz OKTN2 [14]. Ņemot vērā pastiprināto interesi par TMAO kā klīniski nozīmīgu kardiometabolisko risku marķieri, meldonija darbības mehānismu pētījumiem varētu būt nozīmīga loma jaunu zāļu mērķu atklāšanai.

Nākotnes perspektīvas

Balstoties uz meldonija darbības molekulāro mehānismu un efektu pētījumiem, Latvijas Organiskās sintēzes institūtā tika sāks projekts, kas rezultējās ar jaunu kardioprotektīva savienojuma metil-GBB atklāšanu. Jaunā zāļu kandidātviela tika izvēlēta no apmēram 100 jauniem sintezētajiem savienojumiem, skrīnējot to bioķīmisko aktivitāti, izmantojot meldonija aktivitātes mērķproteīnus BBOX un OKTN2 [31]. Izolētas žurku sirds eksperimentālajā infarktu modelī metil-GBB 20 reizes zemākā devā divas reizes labāk nekā meldonijs samazināja infarkta zonu [32]. Turpinot projektu, ar AS *Grindeks* atbalstu tika atklātas arī citas jaunas molekulas īpašības. Metil-GBB uzrādīja ievērojami labāku par meldoniju efektu arī eksperimentālajos diabēta un aterosklerozes modeļos [20, 33]. Līdz ar to pirmo reizi kopš Latvijas neatkarības atjaunošanas zinātniekiem sadarbībā ar farmācijas industriju pabeigta jaunas oriģinālas kardioprotektīvas zāļu kandidātvielas ķīmiskā un eksperimentālā izpēte. Tas deva iespēju AS *Grindeks* izstrādāt oriģinālas šo molekulu saturošas zāles, veikt to drošuma novērtējumu dzīvnieku pētījumos un pieteikt klīniskos pētījumus.

Pētījumi veikti ar Valsts pētījumu programmas *BIOMEDICINE* atbalstu.

Literatūra

1. Dambrova M, Makreka-Kuka M, Viskers R, Makarova E, Kuka J, Liepinš E. Pharmacological effects of meldonin: Biochemical mechanisms and biomarkers of cardiometabolic activity. *Pharmacol Res* 2016;113(Pt B):771-80.
2. Liepinš E, Viskers R, Leca D, Kirjanova O, Pugovics O, Kalvinskis I, et al. Mildronate, an inhibitor of carnitine biosynthesis, induces an increase in gamma-butyrobetaine contents and cardioprotection in isolated rat heart infarction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006;48(6):314-9.
3. Sesti C, Simkhovich BZ, Kalvinskis I, Kloner RA. Mildronate, a novel fatty acid oxidation inhibitor and antianginal agent, reduces myocardial infarct size without affecting hemodynamics. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006;47(3):493-9.
4. Viskers R, Liepinš E, Kuka J, Cirule H, Veveris M, Kalvinskis I, et al. Myocardial infarct size-limiting and anti-arrhythmic effects of mildronate orotate in the rat heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23(4):281-8.
5. Liepinš E, Skapare E, Kuka J, Makreka M, Cirule H, Vavers E, et al. Activated peroxisomal fatty acid metabolism improves cardiac recovery in ischemia-reperfusion. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2013;386(5):541-50.
6. Simkhovich BZ, Shuterko TV, Meirena DV, Khagi KB, Mazepuke RJ, Molocchina TN, et al. 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium)propionate (THP)-a novel gamma-butyrobetaine

- hydroxylase inhibitor with cardioprotective properties. *Biochem Pharmacol* 1988;37(2):195-202.
7. Liepinsh E, Vilskersts R, Zvejniele L, Svalbe B, Skapare E, Kuka J, et al. Protective effects of mildronate in an experimental model of type 2 diabetes in Goto-Kakizaki rats. *Br J Pharmacol* 2009;157(8):1549-56.
8. Kuka J, Vilskersts R, Cirule H, Makrecka M, Pugovics O, Kalvinsh I, et al. The cardioprotective effect of mildronate is diminished after co-treatment with L-carnitine. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2012;17(2):215-22.
9. Hayashi Y, Kirimoto T, Asaka N, Nakano M, Tajima K, Miyake H, et al. Beneficial effects of MET-88, a gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor in rats with heart failure following myocardial infarction. *Eur J Pharmacol* 2000;395(3):217-24.
10. Hayashi Y, Ishida H, Hoshiai M, Hoshiai K, Kirimoto T, Kanno T, et al. MET-88, a gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor, improves cardiac SR Ca²⁺ uptake activity in rats with congestive heart failure following myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2000;209(1-2):39-46.
11. Statsenko ME, Belenikova SV, Sporova OE, Shilina NN. [The use of mildronate in combined therapy of postinfarction chronic heart failure in patients with type 2 diabetes mellitus]. *Klin Med (Mosk)* 2007;85(7):39-42.
12. Dzerve V, Group MIS. A dose-dependent improvement in exercise tolerance in patients with stable angina treated with mildronate: a clinical trial "MILSS I". *Medicina (Kaunas)* 2011;47(10):544-51.
13. Vilskersts R, Liepinsh E, Mateuszuk L, Grinberga S, Kalvinsh I, Chlopicki S, et al. Mildronate, a regulator of energy metabolism, reduces atherosclerosis in apoE/LDLR- mice. *Pharmacology* 2009;83(5):287-93.
14. Dambrova M, Skapare-Makarova E, Konrade I, Pugovics O, Grinberga S, Tirzite D, et al. Meldonin decreases the diet-increased plasma levels of trimethylamine N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis. *J Clin Pharmacol* 2013;53(10):1095-8.
15. Kuka J, Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, Liepins J, Cirule H, Gustina D, et al. Suppression of intestinal microbiota-dependent production of pro-atherogenic trimethylamine N-oxide by shifting L-carnitine microbial degradation. *Life Sci* 2014;117(2):84-92.
16. Liepinsh E, Kuka J, Svalbe B, Vilskersts R, Skapare E, Cirule H, et al. Effects of long-term mildronate treatment on cardiac and liver functions in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2009;105(6):387-94.
17. Liepinsh E, Vilskersts R, Skapare E, Svalbe B, Kuka J, Cirule H, et al. Mildronate decreases carnitine availability and up-regulates glucose uptake and related gene expression in the mouse heart. *Life Sci* 2008;83(17-18):613-9.
18. Sokolovska J, Rumaks J, Karajeva N, Grinvalde D, Shapirova J, Klusa V, et al. [The influence of mildronate on peripheral neuropathy and some characteristics of glucose and lipid metabolism in rat streptozotocin-induced diabetes mellitus model]. *Biomed Khim* 2011;57(5):490-500.
19. Liepinsh E, Skapare E, Svalbe B, Makrecka M, Cirule H, Dambrova M. Anti-diabetic effects of mildronate alone or in combination with metformin in obese Zucker rats. *Eur J Pharmacol* 2011;658(2-3):277-83.
20. Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, Makarova E, Volska K, Svalbe B, Sevostjanovs E, et al. Decreased acylcarnitine content improves insulin sensitivity in experimental mice models of insulin resistance. *Pharmacol Res* 2016;113(Pt B):788-95.
21. Spaniol M, Brooks H, Auer L, Zimmermann A, Solioz M, Stieger B, et al. Development and characterization of an animal model of carnitine deficiency. *Eur J Biochem* 2001;268(6):1876-87.
22. Liepinsh E, Makrecka M, Kuka J, Cirule H, Makarova E, Sevostjanovs E, et al. Selective inhibition of OCTN2 is more effective than inhibition of gamma-butyrobetaine hydroxylase to decrease the availability of L-carnitine and to reduce myocardial infarct size. *Pharmacol Res* 2014;85:33-8.
23. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013;19(5):576-85.
24. Dambrova M, Liepinsh E, Kalvinsh I. Mildronate: cardioprotective action through carnitine-lowering effect. *Trends Cardiovasc Med* 2002;12(6):275-9.
25. Asaka N, Muranaka Y, Kirimoto T, Miyake H. Cardioprotective profile of MET-88, an inhibitor of carnitine synthesis, and insulin during hypoxia in isolated perfused rat hearts. *Fundam Clin Pharmacol* 1998;12(2):158-63.
26. Aguer C, McCain CS, Knotts TA, Thrush AB, Ono-Moore K, McPherson R, et al. Acylcarnitines: potential implications for skeletal muscle insulin resistance. *FASEB J* 2015;29(1):336-45.
27. Makrecka M, Kuka J, Volska K, Antone U, Sevostjanovs E, Cirule H, et al. Long-chain acylcarnitine content determines the pattern of energy metabolism in cardiac mitochondria. *Mol Cell Biochem* 2014;395(1-2):1-10.
28. Liepinsh E, Konrade I, Skapare E, Pugovics O, Grinberga S, Kuka J, et al. Mildronate treatment alters gamma-butyrobetaine and L-carnitine concentrations in healthy volunteers. *J Pharm Pharmacol* 2011;63(9):1195-201.
29. Zaugg CE, Spaniol M, Kaufmann P, Bellahcene M, Barbosa V, Tolnay M, et al. Myocardial function and energy metabolism in carnitine-deficient rats. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(4):767-75.
30. Dambrova M, Latkovskis G, Kuka J, Strele I, Konrade I, Grinberga S, et al. Diabetes is Associated with Higher Trimethylamine N-oxide Plasma Levels. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2016;124(4):251-6.
31. Tars K, Leitans J, Kazaks A, Zelencova D, Liepinsh E, Kuka J, et al. Targeting carnitine biosynthesis: discovery of new inhibitors against gamma-butyrobetaine hydroxylase. *J Med Chem* 2014;57(6):2213-36.
32. Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, Kuka J, Vilskersts R, Makarova E, Cirule H, et al. Inhibition of L-carnitine biosynthesis and transport by methyl-gamma-butyrobetaine decreases fatty acid oxidation and protects against myocardial infarction. *Br J Pharmacol* 2015;172(5):1319-32.
33. Vilskersts R, Kuka J, Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, Volska K, Makarova E, et al. Methyl-gamma-butyrobetaine decreases levels of acylcarnitines and attenuates the development of atherosclerosis. *Vascu Pharmacol* 2015;72:101-7.