

STRESZCZENIE

Meldonium jest inhibitorem hydroksylazy γ -butyrobetainy, enzymu katalizującego biosyntezę L-karnityny. Meldonium przyczynia się do zahamowanie mitochondrialnej β -oksydacji kwasów tłuszczowych w warunkach hipoksji, dzięki czemu wykazuje działanie ochronne na komórki mięśnia sercowego, wątroby oraz płuc. Zmniejsza negatywne skutki zawału serca, arytmii i cukrzycy. Stanowi obiecujący środek w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, czy bolesne neuropatie. Hamuje związane z wiekiem zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym poprzez apoptozę neuronów i wykazuje pozytywny wpływ na proces uczenia się oraz pamięć. Jednocześnie meldonium zostało sklasyfikowane jako niedozwolony środek dopingujący przez Światową Agencję Antydopingową i jego stosowanie jest zakazane w profesjonalnym sporcie. Najnowsze doniesienia badawcze sugerują, że meldonium może mieć więcej zastosowań klinicznych niż te opisane do tej pory.

WPROWADZENIE

Meldonium (MD), określane również jako MET-88 lub nazwą handlową *Mil-dronate*, zostało zsyntetyzowane w 1988 roku przez zespół naukowców z Łódzkiego Instytutu Syntezy Organicznych. Początkowo meldonium oznaczano akronimem THP, wywodzącym się z nazewnictwa chemicznego: [3-(2,2,2-trimetylohydrazynowy)propionian]. MD jest solą typu zwitterjonowego, zawierającą zarówno ładunek dodatni (kation trimetylohydrazynowy), jak i ładunek ujemny (anion propionianowy), dzięki czemu całkowity ładunek elektryczny cząsteczki jest równy zeru. Opisane w 1988 roku działanie kardioprotekcyjne meldonium wiązano ze zdolnością do hamowania aktywności hydroksylazy γ -butyrobetainy (GBBH, ang. *γ -butyrobetaine hydroxylase*), czego efektem było obniżenie poziomu wolnej karnityny w mięśniu sercowym, a w konsekwencji zablokowanie procesu oksydacji kwasów tłuszczowych. Początkowo zakładano, że MD może być stosowane w celu zachowania prawidłowej funkcji kardiomiocytów w warunkach przedłużającej się hipoksji lub niedokrwienia [1]. Od chwili odkrycia meldonium stało się obiektem wieloletnich badań i znalazło zastosowanie w leczeniu takich schorzeń, jak choroby sercowo-naczyniowe, choroby neurodegeneracyjne, a także jako środek wspomagający w terapii objawów COVID-19.

MELDONIUM W METABOLIZMIE KARNITYNY

W warunkach prawidłowego stężenia tlenu kardiomiocyty wytwarzają 60-70% ATP na drodze fosforylacji oksydacyjnej, co sprawia, że regulacja tego procesu odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu prawidłowego metabolizmu serca. W warunkach hipoksji (np. w wyniku wyczerpującego wysiłku fizycznego) zmniejszona dostępność tlenu hamuje β -oksydację kwasów tłuszczowych, prowadząc do gromadzenia się szkodliwych metabolitów, takich jak długocuchowe acylokarnityny oraz długocuchowy acylokoenzym A (acylo-CoA). Procesom tym nie towarzyszy jednak wzrost ilości ATP w komórce [2]. Wysoki poziom acylo-CoA i acylokarnityny wywiera negatywny wpływ na funkcjonowanie wewnątrzkomórkowych enzymów, takich jak Ca^{2+} -ATPaza w siateczce sarkoplazmatycznej, $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPaza w sarkolemie oraz translokaza ATP w mitochondriach. Enzymy te są niezbędne do utrzymania homeostazy wapniowej, bilansu jonowego wewnątrz komórki oraz odpowiedniego poziomu ATP w cytozolu. Zaburzenia w ich funkcjonowaniu prowadzą do zakłócenia metabolizmu komórkowego kardiomiocytów. Podwyższony poziom acylokarnityny w osoczu krwi został zidentyfikowany jako marker zwiększonego ryzyka śmiertelności z powodu schorzeń sercowo-naczyniowych, takich jak niewydolność serca [3].

dr n. med. Halszka Ponamarczuk,

dr n. med. Marcin Popielarski✉

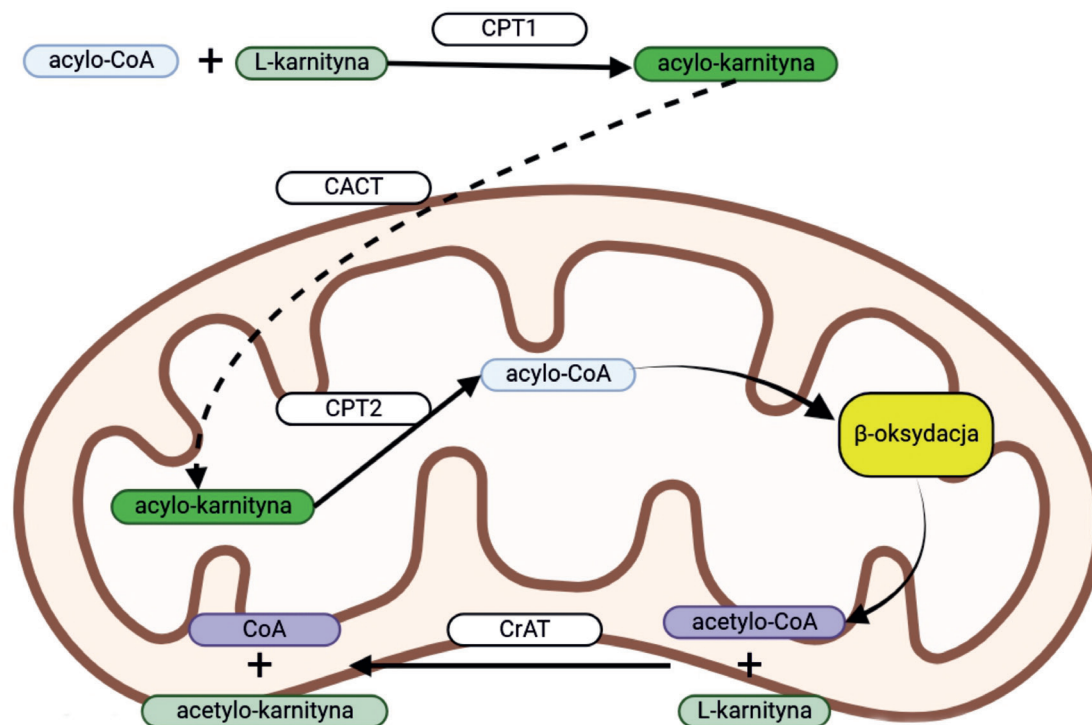
Zakład Cytobiologii i Proteomiki, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

https://doi.org/10.18388/pb.2017_605

✉ autor korespondujący: marcin.popielarski@umed.lodz.pl

Słowa kluczowe: meldonium, L-karnityna, kwasy tłuszczowe, hipoksja, choroby sercowo-naczyniowe, choroby neurodegeneracyjne

Wykaz skrótów: eNOS – syntaza tlenu azotu śródbłonna naczyniowego (ang. *endothelial nitric oxide synthase*); GBB – γ -butyrobetaina (ang. *γ -butyrobetaine*); GBBH – hydroksylaza γ -butyrobetainy (ang. *γ -butyrobetaine hydroxylase*); MD – meldonium; Nrf2/Nfe2l2 – czynnik jądrowy związany z erytrocytami 2 (ang. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*); OCTN2 – inhibitor transportera kationów organicznych typu 2/karnityny (ang. *type 2 organic cation/carnitine transporter*); PGC-1 α – koaktywator receptora PPAR γ typu 1- α (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α*); PPARs – receptory aktywowanych proliferatorami peroksisomów (ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*); ROS – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*); TMAO – N-trimetyloaminy (ang. *trimethylamine N-oxide*).



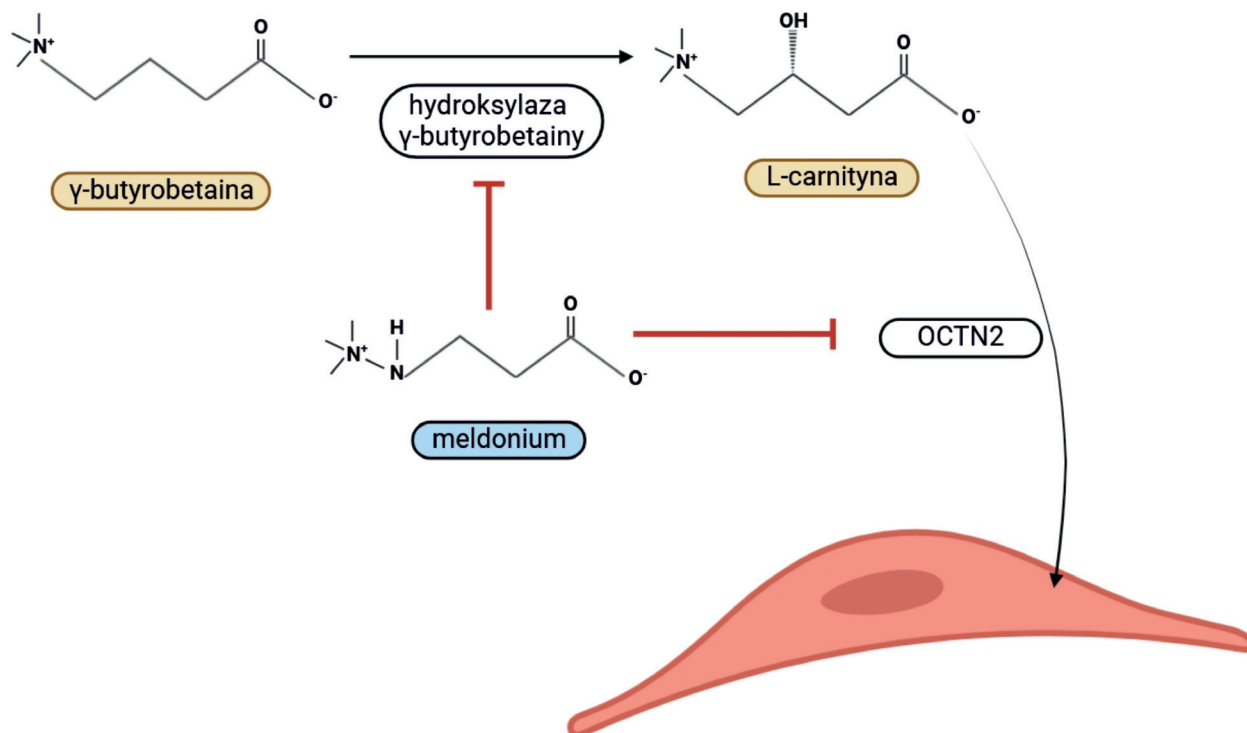
Rycina 1. Przemiany kwasów tłuszczowych regulowane przez L-karnitynę. CACT – translokaza karnitynowo-acylokarnitynowa; CoA – koenzym A; CPT1 – palmitoilotransferaza karnitynowa 1; CPT2 – palmitoilotransferaza karnitynowa 2; CrAT – transferaza karnitynowa.

L-karnityna umożliwia transport acylo-CoA z cytoplazmy do mitochondriów. W pierwszym etapie tego procesu acylo-CoA jest przekształcany w acylokarnitynę w reakcji katalizowanej przez palmitoilotransferazę karnitynową 1 (CPT1, ang. *carnitine palmitoyltransferase-1*). Acylokarnityna jest następnie transportowana do mitochondriów za pośrednictwem translokazy karnitynowo-acylokarnitynowej (CACT, ang. *carnitine/acylcarnitine translocase*). W macierzy mitochondrialnej palmitoilotransferaza karnitynowa 2 (CPT2, ang. *carnitine palmitoyltransferase-2*) katalizuje ponowną konwersję acylokarnityny do acylo-CoA, który następnie ulega β -oksydacji. Równolegle transferaza karnitynowa (CrAT, ang. *carnitine acetyltransferase*) reguluje poziom CoA, katalizując odwracalny transfer grup acetylowych między acetylo-CoA a L-karnityną (Ryc. 1). Oba te procesy są niezbędne do utrzymania prawidłowego poziomu β -oksydacji kwasów tłuszczowych, a ponadto mogą wpływać na metabolizm glukozy, regulując aktywność kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej (PDC, ang. *pyruvate dehydrogenase complex*). Tym samym L-karnityna pełni kluczową funkcję jako łącznik między metabolizmem kwasów tłuszczowych (FA) a metabolizmem węglowodanów, umożliwiając utrzymanie homeostazy energetycznej i prawidłowego funkcjonowania mitochondriów [4,5].

Prekursorem metabolicznym L-karnityny jest γ -butyrobetaina (GBB, ang. *γ -butyrobetaine*), produkowana w wątrobie, nerkach oraz mózgu. Biosynteza L-karnityny jest ściśle regulowana przez GBBH, która katalizuje hydroksylację GBB w pozycji γ -węgla, przekształcając ją w L-karnitynę [5]. Meldonium wykazuje strukturalne podobieństwo zarówno do L-karnityny, jak i do GBB. W cząsteczce MD atom węgla w pozycji γ został zastąpiony atomem azotu,

co uniemożliwia enzymatyczną hydroksylację katalizowaną przez GBBH. Meldonium hamuje biosyntezę L-karnityny z GBB oraz jej resorpcję w nerkach. Długotrwała suplementacja MD prowadzi do spadku stężenia L-karnityny w osoczu oraz w tkankach, a także do wzrostu poziomu GBB – pięciokrotnego w osoczu i mózgu oraz siedmiokrotnego w kardiomiocytach. Co istotne, meldonium nie wpływa na poziom ekspresji GBBH ani innych enzymów odpowiedzialnych za syntezę L-karnityny [6]. MD działa także jako inhibitor transportera kationów organicznych typu 2/karnityny (OCTN2, ang. *type 2 organic cation/carnitine transporter*), który odpowiada za wychwyt L-karnityny przez komórki (Ryc. 2). Ponadto meldonium hamuje aktywność CrAT, blokując miejsce wiązania karnityny, co zakłóca transport L-karnityny przez błonę mitochondrialną [7].

Początkowo zakładano, że obniżenie wewnątrzkomórkowego poziomu L-karnityny spowodowane przez MD prowadzi do zahamowania oksydacji kwasów tłuszczowych [1]. Jednakże badania przeprowadzone w roku 2013 wykazały, że meldonium nie wpływa znacząco na całkowity poziom β -oksydacji w kardiomiocytach, a nawet może nasilać ten proces na drodze niezależnej od CPT1. W odpowiedzi na wywołany przez MD spadek aktywności CPT1 w mitochondriach dochodzi bowiem do kompensacyjnej aktywacji szlaków sygnałowych zależnych od receptorów aktywowanych proliferatorami peroksysomów (PPARs, ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*) oraz koaktywatora receptora PPAR γ typu 1- α (PGC-1 α , ang. *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α*). Aktywacja szlaku PGC-1 α promuje proliferację peroksysomów, a następnie stymuluje oksydację kwasów tłuszczowych w peroksysomach, gdzie długołańcuchowe kwasy tłuszczowe są metabolizowane do acylokarnityn o średniej i krótkiej



Rycina 2. Mechanizm działania meldonium w metabolizmie L-karnityny. OCTN2 – inhibitor transportera kationów organicznych typu 2/karnityny.

długości łańcucha, które mogą być efektywnie wykorzystywane do produkcji energii bez nagromadzenia szkodliwych metabolitów pośrednich. Tym samym meldonium wspomaga produkcję ATP przy niedostatecznym poziomie tlenu, wywierając korzystny wpływ na kardiomiocyty w warunkach niedokrwienia lub hipoksji [8].

MELDONIUM W CHOROBAH UKŁADU KRAŻENIA

MELDONIUM W METABOLIZMIE SERCA

Meldonium wykazuje działanie ochronne na układ sercowo-naczyniowy (Tab. 1). Badania przeprowadzone w modelach zwierzęcych wykazały, że MD poprawia funkcjonalną adaptacyjność serca do zwiększonego obciążenia, usprawnia metabolizm energetyczny oraz zwiększa przeżywalność po zawale mięśnia sercowego [6]. Efekt ten może być związany z ograniczeniem spadku aktywności Ca^{2+} -ATPazy, co umożliwia utrzymanie prawidłowego poziomu jonów wapnia w kardiomiocytach. Dodatkowo, MD może łagodzić zaburzenia hemodynamiczne w sercu objętym zawałem poprzez stabilizację ekspresji heksokinazy I, co sprzyja regulacji glikolizy i wspiera zachowanie prawidłowej kurczliwości mięśnia sercowego w warunkach hipoksji [9].

Meldonium zmniejsza rozmiar zawału mięśnia sercowego w zwierzęcych modelach ostrego niedokrwienia. Nie wpływa przy tym na ciśnienie tętnicze, masę lewej komory (LV, ang. *left ventricle*) ani częstość akcji serca, co wskazuje na możliwość jego stosowania w szerokim zakresie dawek z farmakologicznego punktu widzenia. MD hamuje dylatację lewej komory, łagodzi przebieg jej przerostu, obniża ciśnienie końcowoskurczowe, zapobiega powiększeniu jamy LV

oraz ogranicza wzrost ciśnienia w prawym przedsionku. [10]. U pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca oraz cukrzycą typu 2 po przebytym zawale, zastosowanie meldonium jako uzupełnienia standardowego leczenia farmakologicznego wiąże się z poprawą wydolności wysiłkowej (test marszowy), tendencją do normalizacji funkcji rozkurczowej oraz wzrostem frakcji wyrzutowej lewej komory [11].

Działanie kardioprotekcyjne meldonium zostało potwierdzone w zwierzęcym modelu cukrzycy typu 2, gdzie zaobserwowano zmniejszenie rozmiaru zawału mięśnia sercowego o 30% [12]. MD nie wykazuje istotnego wpływu na parametry hemodynamiczne, tj. częstość akcji serca, ciśnienie w lewej komorze, czy przepływ wieńcowy; ani przed, ani w trakcie przebiegu procesu niedokrwienia/reperfuzji (I/R, ang. *ischemia/reperfusion*), co sugeruje, że zmniejszenie obszaru objętego zawałem nie jest wynikiem zmian w poziomie obciążenia mięśnia sercowego [13]. Niedokrwienie/reperfuzja to zjawisko, w którym uszkodzenie komórek nasila się po przywróceniu dostępu tlenu do narządu dotkniętego hipoksją. Ten złożony proces obejmuje zarówno wewnątrzkomórkowe, jak i zewnątrzkomórkowe mediatory, takie jak Ca^{2+} , cytokiny oraz reaktywne formy tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*) i prowadzi do wielu efektów patologicznych, w tym stanów zapalnych, podwyższonego poziomu stresu oksydacyjnego, zakłócenia szlaków sygnałowych oraz apoptozy [14]. Ponieważ meldonium nie wpływa na parametry hemodynamiczne, lecz działa jako regulator metaboliczny, może być łączone z lekami oddziałującymi na hemodynamikę pracy serca. Przykładem takiej substancji jest kwas orotowy. Kompleks MD-orotan uznawany jest za obiecujący środek terapeutyczny wspomagający regenerację po uszkodzeniu mięśnia sercowego

Tabela 1. Reakcje biochemiczne i efekty ochronne meldonium w kontekście układu sercowo-naczyniowego.

Reakcja biochemiczna	Efekty ochronny	Lokalizacja
Utrzymanie prawidłowego poziomu jonów wapnia	poprawa funkcji serca pod obciążeniem	kardiomiocyty
Regulacja glikolizy w warunkach hipoksji	poprawa kurczliwości mięśnia sercowego w warunkach hipoksji	kardiomiocyty
Utrzymanie prawidłowej morfologii serca	zapobieganie powiększeniu lewej komory serca	kardiomiocyty
Zmniejszanie występowania i czasu trwania arytmii	stabilizacja rytmu serca	kardiomiocyty
Aktywacja szlaków sygnałowych zależnych od ppar- α	poprawa funkcji serca w warunkach hiperglikemii i hiperlipidemii	kardiomiocyty
Ochrona przed uszkodzeniami mięśnia sercowego	zmniejszenie rozmiaru zawału serca w wyniku niedokrwienia/reperfuzji	kardiomiocyty
Zwiększenie aktywności enzymów przeciwutleniających, zwiększenie poziomu gsh	ochrona przed stresem oksydacyjnym i poprawa funkcji mitochondriów	kardiomiocyty
Stymulacja aktywności inos i produkcji no	poprawa funkcji i kurczliwości śródbłonna naczyniowego, zwiększenie przepływu krwi i zmniejszenie oporu naczyniowego	komórki śródbłonna naczyniowego
Obniżenie poziomu tmao poprzez nasilenie wydalania z moczem oraz hamowanie jego syntezy	zmniejszenie ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego	krew
Zwiększenie zapasów glikogenu, poprawa wrażliwości na insulinę	poprawa metabolizmu glukozy, zmniejszenie ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego	hepatocyty

wywołanym przez niedokrwienie/reperfuzję. Dodatkowo meldonium i jego sól orotanowa skracają czas trwania oraz zmniejszają częstość występowania arytmii [15]. W literaturze fachowej opisano dwa badania przeprowadzone przez radzieckich naukowców, których rezultaty niestety nie zostały potwierdzone przez inne grupy badawcze. Wyniki badań sugerowały, że nawet pojedyncza dawka meldonium, podana zarówno godzinę przed, jak i godzinę po podwiązaniu tętnicy wieńcowej, może prowadzić do zmniejszenia rozmiaru zawału mięśnia sercowego [16]. Obserwacje te są szczególnie intrygujące, ponieważ efekty podania pojedynczej dawki MD nie mogą być bezpośrednio związane z hamowaniem aktywności GBBH ani z redukcją poziomu karnityny. Ponadto jest mało prawdopodobne, aby wynikały z zakłócenia resorpcji karnityny w nerkach [17].

MELDONIUM I ŚRÓDBŁONEK NACZYNIOWY

W modelu szczurzym terapia skojarzona z jednoczesnym zastosowaniem MD i L-karnityny wykazywała działanie ochronne na aortę w warunkach dysfunkcji śródbłonna wywołanej przez hiperglikemię oraz nadciśnienie tętnicze [18]. W tym przypadku efekt terapeutyczny najprawdopodobniej wynika z hamowania hydroksylacji GBB, co prowadzi do wzrostu poziomu estrów GBB, które stymulują aktywność syntazy tlenu azotu śródbłonna naczyniowego (eNOS, ang. *endothelial nitric oxide synthase*), przyczyniając się do zwiększonej produkcji tlenu azotu (NO, ang. *nitric oxide*). NO jest produkowany głównie przez śródbłonek naczyniowy w obrębie mikronaczyń. Pełni funkcję czynnika sygnałowego, zaangażowanego w wiele procesów fizjologicznych, takich jak w rozszerzanie naczyń krwionośnych, hamowanie proliferacji komórek mięśni gładkich, hamowanie aktywacji płytek krwi, ograniczanie adhezji leukocytów do ścian naczyń oraz neowaskularyzacja, czyli tworzenie nowych naczyń krwionośnych z naczyń już istniejących bądź z komórek progenitorowych śródbłonna naczyniowego. Wszystkie te efekty przyczyniają się do zahamowania procesów zapalnych, zwiększenia przepuszczalności śródbłonna naczyniowego oraz lepszego dotlenienia tkanek [19].

Badania z udziałem ludzi wykazały, że MD hamuje rozwój zmian miażdżycowych zarówno w obrębie pnia aorty, jak i w zatoce aorty, obniżając poziom tlenu N-trimetyloaminy (TMAO, ang. *trimethylamine N-oxide*) [20]. TMAO, produkowany z cholicy oraz L-karnityny przez mikroflorę jelitową, jest uważany za czynnik ryzyka w licznych zespołach chorobowych, takich jak insulinooporność i nowotwory przewodu pokarmowego. W jelitach L-karnityna jest najpierw przekształcana w trimetyloaminę (TMA, ang. *trimethylamine*), a następnie utleniana do TMAO. Podwyższone stężenie TMA i TMAO we krwi, w połączeniu z wysokim poziomem L-karnityny, może pełnić rolę wskaźnika prognostycznego w ocenie ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego [21]. MD jest pierwszym małowcząsteczkowym związkiem, niezaliczanym do grona antybiotyków, który obniża poziom TMAO we krwi poprzez nasilone wydalanie z moczem oraz hamowanie jego syntezy. Mechanizm biochemiczny tego procesu nie został dotąd dokładnie zbadany, ale wydaje się mało prawdopodobne, aby był bezpośrednio zależny od obniżenia aktywności OCTN2 [20].

Nawet pojedyncza dożylna iniekcja meldonium zwiększa przepływ krwi w łuku aorty, tętnicach szyjnych, kręgowych i udowych, jednocześnie zmniejszając opór naczyniowy, co zostało udowodnione w eksperymentach z udziałem zwierząt. MD wykazuje również zdolność łagodzenia skurczy naczyniowych wywołanych epinefryną oraz zapobiega objawom niewydolności serca spowodowanej zwężeniem tętnicy płucnej. Dodatkowo meldonium obniża ciśnienie tętnicze i pozytywnie wpływa na parametry krążenia mózgowego u zwierząt. Pojedyncza dawka leku może normalizować aktywność naczyń mózgowych na czas od 60 do 90 minut [16]. Co więcej, jednoczesne podawanie MD oraz GBB przeciwdziała zablokowaniu produkcji NO przez czynniki działające jako inhibitory eNOS [22].

MELDONIUM I REGULACJA POZIOMU GLUKOZY WE KRWI

Podawanie MD w dawkach stosowanych w celu uzyskania efektów kardioprotekcyjnych lub podczas leczenia do-

rażnego nie wykazuje istotnego wpływu na poziom glukozy we krwi u zwierząt. Z kolei długotrwała terapia z użyciem wysokich dawek meldonium obniża poziom glukozy we krwi poprzez zwiększenie jej poboru oraz przez nasilenie ekspresji białek związanych z metabolizmem glukozy, takich jak GLUT4, heksokinaza II oraz receptor insuliny [19].

Długoterminowa suplementacja meldonium u szczurów wywołuje efekty zbliżone do działania metforminy, popularnego leku stosowanego w leczeniu cukrzycy typu 2. MD w terapii skojarzonej z jednoczesnym zastosowaniem metforminy przyczynia się do zwiększenia zapasów glikogenu w wątrobie, co sugeruje poprawę wrażliwości wątroby na insulinę. W przeciwieństwie do monoterapii, kombinacja obu leków zapobiega także przyrostowi masy ciała u zwierząt [23]. Leczenie metforminą zazwyczaj wiąże się ze zwiększeniem stężenia mleczanów w osoczu [24]. Natomiast jednoczesne podawanie MD i metforminy prowadzi do ich stopniowego obniżenia, co sugeruje, że meldonium może zmniejszać ryzyko rozwoju kwasicy mleczanowej indukowanej metforminą. [23].

W szczurzym modelu cukrzycy spadek dostępności L-karnityny wywołany przez MD prowadzi do obniżenia poziomu glukozy w osoczu krwi, któremu jednak nie towarzyszy wzrost stężenia insuliny [19]. MD poprawia również tolerancję glukozy, ogranicza wzrost poziomu glikowanej hemoglobiny, a także zapobiega rozwojowi neuropatii cukrzycowej typu 1. Dodatkowo wywołana przez meldonium aktywacja szlaków sygnałowych zależnych od PPAR- α w kardiomiocytach, poprawia adaptację serca do zaburzeń metabolicznych wywołanych hiperglikemią i hiperlipidemią u szczurów cierpiących na otyłość [25]. MD zapobiega utracie wrażliwości na ból u szczurów z cukrzycą typu 2, w związku z czym zaleca się jego stosowanie jako dodatek do standardowego leczenia neuropatii czuciowo-ruchowej u pacjentów z cukrzycą [19].

MELDONIUM W PRZECIWDZIAŁANIU STRESOWI OKSYDACYJNEMU I STANOM ZAPALNYM

Meldonium wykazuje pozytywny wpływ na funkcjonowanie mitochondriów w kardiomiocytach uszkodzonych przez izoproterenol (ISO), będący nieselektywnym agonistą receptorów β -adrenergicznych, powszechnie stosowanym w leczeniu bradykardii i rzadziej, astmy. Podanie ISO myszom w dawce 100 mg/kg masy ciała prowadzi do zwiększonej peroksydacji lipidów, jednocześnie zmniejszając aktywność kluczowych enzymów przeciwutleniających, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, ang. *superoxide dismutase*), peroksydaza glutationowa (GPx, ang. *glutathione peroxidase*), reduktaza glutationowa (GRx, ang. *glutathione reductase*) oraz transferaza glutationowa (GST, ang. *glutathione-S-transferase*) w mięśniu sercowym [26]. Dodatkowo ISO stymuluje produkcję cytokin prozapalnych, takich jak IL-18, a także ROS i reaktywnych form azotu (RNS, ang. *reactive nitrogen species*). Nadprodukcja anionów ponadtlenkowych wywołana przez ISO zmniejsza dostępność bioaktywnego NO, co pogłębia dysfunkcję śródbłonna. Mechanizm kardioprotekcyjny meldonium przeciwko uszkodzeniom wywołanym przez ISO polega na aktywacji systemu obrony przed stresem oksydacyjnym. MD stymuluje

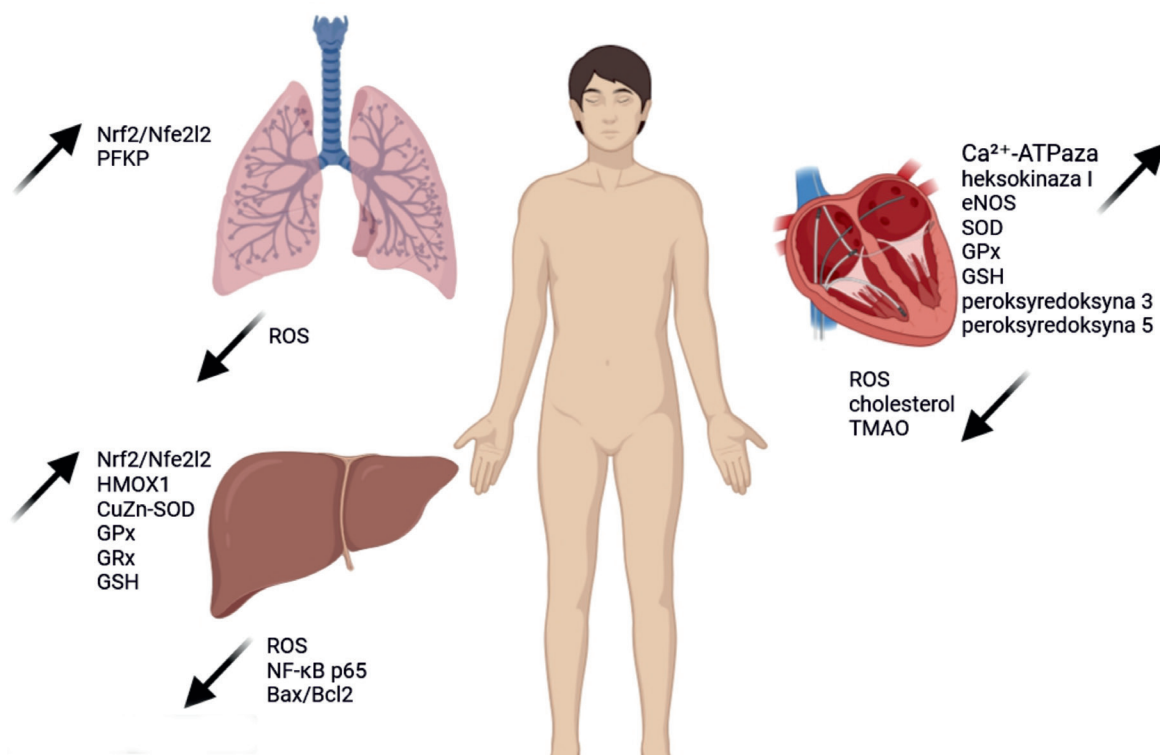
ekspresję enzymów przeciwutleniających, takich jak SOD i GPx, oraz zwiększa poziom nieenzymatycznych czynników przeciwutleniających, takich jak zredukowany glutation (GSH) [26,27].

Meldonium redukuje infiltrację limfocytów wywołaną przez azidotymidynę (AZT), co uznaje się za jeden z wczesnych etapów rozwoju stanu zapalnego w obrębie układu krwionośnego. Ponadto MD chroni mitochondria przed uszkodzeniem spowodowanym przez AZT, blokując nadmierną produkcję nadtlenu wodoru (H_2O_2) i utrzymując prawidłowe funkcjonowanie kompleksu I łańcucha oddychowego w mitochondriach. Efektem opisanych mechanizmów jest utrzymanie prawidłowego przebiegu oddychania komórkowego oraz utrzymanie fizjologicznego poziomu ATP [28,29].

W mitochondriach szczurzych hepatocytów meldonium wykazuje zdolność do blokowania produkcji H_2O_2 wywołanej nie tylko przez AZT, ale także przez rotenon, będący inhibitorem kompleksu I łańcucha oddychowego. Ponadto MD redukuje ekspresję czynnika jądrowego kappa B p65 (NF- κ B p65), który ulega aktywacji w komórkach wątroby w odpowiedzi na nadmierną produkcję ROS oraz uwolnienie białek zaliczanych do grupy wzorców molekularnych związanych z uszkodzeniem (DAMPs, ang. *Damage-Associated Molecular Patterns*). Aktywacja NF- κ B prowadzi do zwiększonej produkcji cytokin prozapalnych oraz chemokin, które z kolei odpowiadają za aktywację neutrofilów, powodujące dalsze uszkodzenia wątroby [28,30].

W hepatocytach szczurów meldonium dodatkowo inicjuje aktywację czynnika jądrowego związanego z erytroidami 2 (Nrf2/Nfe2l2, ang. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), który odgrywa kluczową rolę w ochronie komórek przed uszkodzeniem wywołanym hipoksją. MD stymuluje systemy ochrony antyoksydacyjnej poprzez zwiększenie stosunku kwasu askorbinowego do dehydroaskorbinowego w osoczu krwi oraz w wątrobie, nasilenie ekspresji oksygenazy hemowej 1 (HMOX1, ang. *heme oxygenase 1*), podwyższenie poziomu GSH oraz zwiększenie zawartości wolnych grup tiolowych. Podobnie jak w przypadku kardiomiocytów, meldonium zwiększa aktywność kluczowych enzymów antyoksydacyjnych w komórkach wątroby tj. dysmutaza ponadtlenkowa miedziowo-cynkowa (CuZn-SOD), GPx i GRx, przyczyniając się do utrzymania homeostazy redoks. MD dodatkowo obniża ryzyko wystąpienia stanów zapalnych w wątrobie poprzez redukcję ekspresji Bax/Bcl2, haptoglobiny oraz NF- κ B [30].

W modelu mysim wykazano, że MD łagodzi uszkodzenie płuc w warunkach hipoksji poprzez oddziaływanie na płytkową izoformę fosfofruktokinazy (PFKP, ang. *phosphofructokinase platelet isoform*), która stymuluje oksydację pirogronianu po zakończeniu glikolizy, zapobiegając jego przekształceniu w kwas mlekowy. Dodatkowo MD wspomaga translokację Nrf2/Nfe2l2 z cytoplazmy do jądra komórkowego pneumocytów, co – podobnie jak w przypadku komórek wątroby – przyczynia się do ekspresji białek przeciwdziałających stresowi oksydacyjnemu (Ryc. 3) [31].



Rycina 3. Oddziaływanie meldonium z innymi białkami w chorobach układu krążenia, chorobach wątroby oraz układu oddechowego. CuZn-SOD – dysmutaza nadtlenkowa miedziowo-cynkowa; eNOS – syntaza tlenku azotu śródbłonna naczyniowego; GPx – peroksydaza glutationowa; GRx – reduktaza glutationowa; GSH – zredukowany glutation; HMOX1 – oksygenaza hemowa 1; Nrf2/Nfe2l2 – czynnik jądrowy związany z erytroidami 2; PFKP – płytkowa izoforma fosfofruktokinazy; ROS – reaktywne formy tlenu; SOD – dysmutaza nadtlenkowa; TMAO – N-trimetyloaminy.

MELDONIUM W CHOROBAH UKŁADU NERWOWEGO

MELDONIUM I L-KARNITYNA W KOMÓRKACH NERWOWYCH

Meldonium wykazuje szerokie działanie regulacyjne metabolizmu energetycznego mózgu (Tab. 2), co może przynieść korzyści kliniczne u pacjentów z takimi schorzeniami jak udar mózgu, niewydolność mózgową, encefalopatia I i II stopnia oraz jaskra pierwotna. Ponadto meldonium zapobiega skurczom naczyń krwionośnych oraz zmniejsza

ryzyko wtórnych uszkodzeń neuronalnych związanych z krwotokiem podpajęczynówkowym [16,32]

Jednym z interesujących przykładów korzystnych efektów suplementacji MD w kontekście procesów zachodzących w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) jest jego pozytywny wpływ na stan zdrowia po zatruciu alkoholem. Meldonium wspomaga rekonwalescencję oraz łagodzi uszkodzenia układu nerwowego wywołane działaniem etanolu. MD normalizuje zaburzenia neurologiczne i zapewnia ochronę przed utratą odruchu korekcyjnego (LORR, ang.

Tabela 2. Reakcje biochemiczne i efekty ochronne meldonium w kontekście układu nerwowego.

Reakcja biochemiczna	Efekt ochronny	Lokalizacja
Stymulacja produkcji no	poprawa przepływu krwi w OUN, regeneracja neuronów, ochrona przed wtórnym niedokrwieniem	komórki śródbłonna naczyń krwionośnych mózgu
Zwiększenie aktywności enzymów przeciwutleniających	ochrona przed stresem oksydacyjnym i poprawa funkcji mitochondriów	neurony
Hamowanie tworzenia agregatów mhtt	ochrona przed uszkodzeniami neuronów w chorobie Huntingtona	neurony
Utrzymanie homeostazy energetycznej, wzmocnienie obrony antyoksydacyjnej	ochrona przed uszkodzeniami neuronów w chorobie Huntingtona	neurony
Zmniejszenie ekspresji białek związanych z apoptozą	ochrona przed uszkodzeniami neuronów w chorobie Parkinsona	neurony
Zwiększenie przeżywalności i różnicowania neuronów dopaminergicznych	ochrona przed uszkodzeniami neuronów w chorobie Parkinsona	neurony
Zmniejszenie aktywacji mikrogleju i stanów zapalnych	ochrona przed uszkodzeniami neuronów w chorobie Parkinsona	komórki mikrogleju
Zmniejszenie poziomu ache	poprawa funkcji poznawczych w chorobie Alzheimerza	neurony
Obniżenie poziomu stresu oksydacyjnego	ochrona przed uszkodzeniami neuronów w chorobie Alzheimerza	neurony
Zwiększenie przepuszczalności śródbłonna naczyniowego i łatwiejsze usuwanie aβ z oun	ochrona przed uszkodzeniami neuronów w chorobie Alzheimerza	komórki śródbłonna naczyń krwionośnych mózgu

loss of the righting reflex) indukowaną alkoholem, a także przed drgawkami wywołanymi pentetrazolem (PTZ). Nie wpływa natomiast na napady drgawkowe indukowane bikukuliną. Etanol w niskich dawkach może zwiększać aktywność lokomotoryczną, co udowodniono m.in. w teście otwartego pola. Jednak wysokie dawki prowadzą do zaburzeń koordynacji ruchowej, zablokowania LORR lub utraty przytomności. W testach oceniających prawidłowość przepływu mózgowego (CBF, ang. *cerebral blood flow*) MD nie ogranicza zmian wywołanych etanolem, jednak skraca czas utraty przytomności spowodowanej dużą dawką alkoholu. Sugeruje to, że MD i etanol mogą oddziaływać na podobne szlaki w ośrodkowym układzie nerwowym [16,33].

Rola MD w terapii schorzeń OUN, mimo potwierdzenia w modelach eksperymentalnych, nadal nie jest w pełni zrozumiana. Zmiany w metabolizmie kwasów tłuszczowych, jakie zachodzą w wyniku suplementacji meldonium, nie mogą stanowić jedynego wyjaśnienia efektów obserwowanych OUN po podaniu MD, ponieważ neurony mózgowe wykorzystują glukozę, a nie kwasy tłuszczowe, jako główne źródło energii. Jedną z hipotez dotyczących mechanizmu działania meldonium w OUN zakłada aktywację szlaków biochemicznych zależnych od L-karnityny, bowiem L-karnityna wykazuje właściwości neuroprotektcyjne, neurotroficzne, przeciwdepresyjne i przeciwbólowe w wielu zespołach chorobowych dotyczących OUN [16]. Suplementacja L-karnityną wspomaga prawidłowe funkcjonowanie mitochondriów w warunkach niedokrwienia mózgu, hamuje degenerację neuronów, obniża ryzyko napadów epileptycznych oraz łagodzi stres oksydacyjny wywołany przez czynniki takie jak etanol [34].

L-karnityna inicjuje w neuronach ekspresję czynnika transkrypcyjnego Nrf2/Nfe2l2 [35] który wykazuje zdolność do wiązania się z elementami odpowiedzi antyoksydacyjnej (ARE, ang. *antioxidant response element*) co indukuje ekspresję genów odpowiedzialnych za biogenezę mitochondriów (Nrf1 i Cox1), a także za mitofagię (p62 i Pink1) [36]. L-karnityna ogranicza uszkodzenia neurologiczne wywołane stresem oksydacyjnym poprzez stymulację aktywności takich enzymów jak SOD, GPx oraz katalaza (CAT, ang. *catalase*), a także poprzez zwiększenie stężenia GSH oraz eliminację rodnika ponadtlenkowego i H₂O₂ [16].

Choć mechanizm działania meldonium częściowo naśladuje efekty L-karnityny, nie wyjaśnia to w pełni wszystkich obserwowanych efektów, jakie suplementacja MD wywiera w OUN. Zakres reakcji biochemicznych modulowanych przez MD w neuronach wydaje się szerszy niż w przypadku samej L-karnityny. Meldonium zwiększa stężenie GBB i jej estrów, co prowadzi do stymulacji produkcji NO w śródbłonku naczyń krwionośnych mózgu. U zwierząt z ogniskowymi uszkodzeniami mózgu oraz postępującym niedokrwieniem MD przywraca prawidłowy przepływ krwi w obrębie krążenia mózgowego oraz poprawia odpowiedź naczyń krwionośnych na czynniki regulujące skurcze. Efekt terapeutyczny meldonium w tym kontekście opiera się na wspomaganiu procesów regeneracyjnych w OUN poprzez zwiększenie produkcji NO w śródbłonku naczyniowym krążenia mózgowego [16,34].

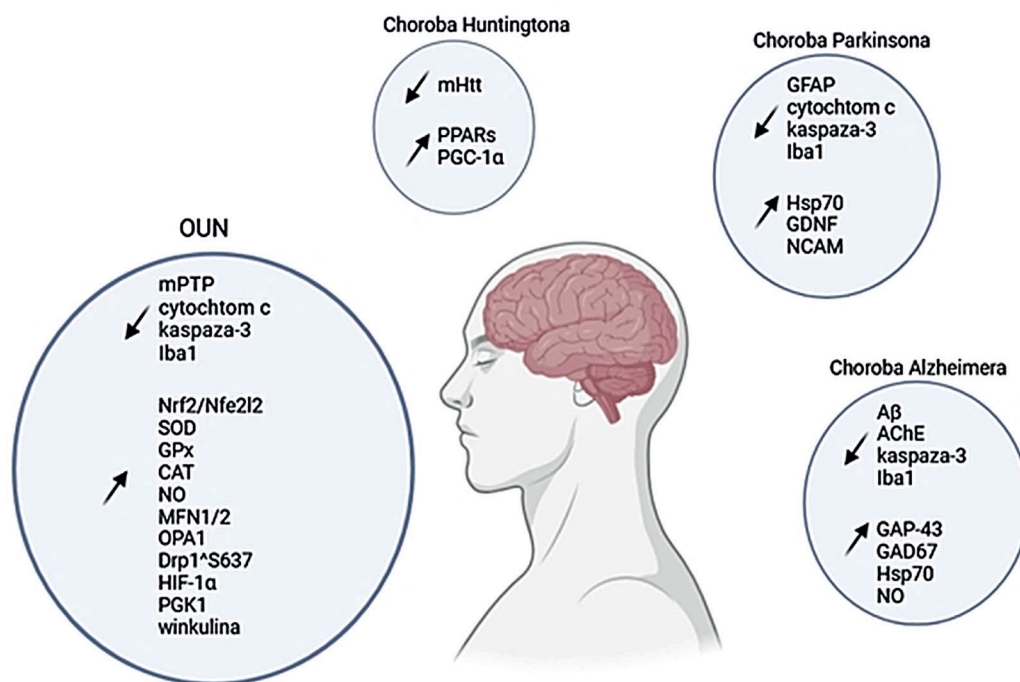
Co ważne, MD może również wykazywać działanie odwrotne. W modelu szczurzym wykazano, że podanie zwierzętom lipopolisacharydu (LPS) prowadzi do wzrostu stężenia NO w korze mózgowej, natomiast jednoczesne podanie LPS i meldonium powoduje znaczące obniżenie poziomu NO zarówno w korze mózgowej, jak i w mózgdzku. Ponieważ efekt ten nie jest zależny od zahamowania aktywności iNOS, można przypuszczać, że MD zmniejsza stężenie NO w sposób pośredni poprzez osłabienie odpowiedzi komórek na LPS prowadzącej do zwiększonej produkcji NO [37].

Efekty biochemiczne wywoływane przez meldonium w OUN mogą zależeć od fizjologicznego stanu neuronów. W warunkach patologicznych MD zmniejsza uszkodzenia mitochondrialnego DNA (mtDNA) oraz obniża stężenie koniugatów dienowych w hipokampie poprzez zwiększenie ekspresji Nfe2l2 oraz genów zaangażowanych w biogenezę mitochondriów, takich jak wspomniane wcześniej p62 i Pink1. Z kolei w warunkach fizjologicznych MD może przyczyniać się do obniżenia ekspresji Nfe2l2 w neuronach [38,39].

Urazy czaszkowo-mózgowe (TBI, ang. *Traumatic Brain Injury*) odpowiadają za 30–40% zgonów związanych z pourazowymi uszkodzeniami ciała i pozostają główną przyczyną niepełnosprawności neurologicznych na całym świecie. Uszkodzenia pierwotne w przebiegu TBI powstają w wyniku bezpośredniego uderzenia oraz mechanicznych obrażeń w obrębie OUN, obejmujących zarówno neurony, jak i komórki glejowe oraz naczynia krwionośne. Uszkodzenia wtórne stanowią następstwo aktywacji kaskad sygnalizacyjnych w odpowiedzi na uraz mechaniczny. Prowadzą do wytworzenia stanów zapalnych, dysfunkcji mitochondriów, ekscytotoksyczności oraz niedokrwienia. Jednym z głównych mechanizmów wtórnego uszkodzenia jest nadmierny napływ jonów wapnia do wnętrza komórek, co negatywnie wpływa na funkcjonowanie mitochondriów i prowadzi do nasilenia stresu oksydacyjnego [40].

W modelach zwierzęcych meldonium wykazuje działanie neuroprotektcyjne w przebiegu TBI poprzez modulację funkcji naczyniowej oraz utrzymanie prawidłowego przepływu krwi w obrębie naczyń mózgowych. MD zwiększa ekspresję genów zaangażowanych w regulację napięcia ścian naczyń oraz przeciwdziała efektom wywołanym przez inhibitory eNOS, jednocześnie aktywując mechanizmy antyoksydacyjne, np. poprzez stymulowanie aktywności SOD. Mechanizm ten sprzyja utrzymaniu optymalnego przepływu mózgowego, co ma kluczowe znaczenie dla ograniczenia dalszych uszkodzeń neuronów i poprawy rokowań u pacjentów w TBI [41].

Podobny mechanizm działania meldonium obserwuje się w przypadku udaru niedokrwinnego mózgu (IS, ang. *ischemic stroke*). W modelach zwierzęcych MD łagodzi skutki niedokrwienia, chroni przed zmianami histologicznymi w uszkodzeniu reperfuzyjnym OUN oraz zmniejsza prawdopodobieństwo wystąpienia kolejnych epizodów udarowych. Ponadto MD zapobiega uszkodzeniom neuronów wywołanych skurczem naczyń krwionośnych, jaki następuje po krwotoku podpajęczynówkowym – stanie, w którym



Rycina 4. Oddziaływanie meldonium z innymi białkami w chorobach układu nerwowego. Aβ – blaszki amyloidowe β, AChE – acetylocholinoesteraza; CAT – katalaza; GAD-67 – dekarboksylaza gulumianu typu 67; GAP-43 – białko związane ze wzrostem typu 43; GDNF – glejowy czynnik neurotroficzny; GFAP – kwaśne białko włóknkowe gleju; GPx – peroksydaza glutationowa; HIF-1α – czynnik indukowany hipoksją 1-α; Hsp70 – białko szoku cieplnego typu 70; Iba1 – zjonizowana cząsteczka adaptorowa wiążącej wapń typu 1; MFN 1/2 – mitsufina 1 i 2; mPTP – pory przejściowe błony mitochondrialnej; NCAM – cząsteczka adhezyjna komórek nerwowych; NO – tlenek azotu; Nrf2/Nfe2l2 – czynnik jądrowy związany z erytrocytami 2; OPA1 – białko atrofii nerwu wzrokowego typu 1; PGK1 – fosfoglicerynianokinaza typu 1; SOD – dysmutaza nadtlenkowa miedziowo-cynkowa.

niedokrwienie wtórne jest główną przyczyną śmiertelności. Pozytywne efekty wywołane przez podawanie meldonium w przebiegu IS są prawdopodobnie związane z nasileniem syntezy NO, który odgrywa kluczową rolę w regulacji przepływu krwi oraz wspiera regenerację i prawidłowe funkcjonowanie OUN po epizodzie niedokrwinnym (Ryc. 4) [42,43].

MELDONIUM W CHOROBY HUNTINGTONA

Choroba Huntingtona (HD, ang. *Huntington's disease*) charakteryzuje się postępującą atrofią tkanki nerwowej w obrębie kory mózgowej oraz prądkowia, wynikającą z gromadzenia się w komórkach nieprawidłowej wersji białka huntingtyny (mHtt). Zmieniona strukturalnie huntingtyna zakłóca liczne procesy komórkowe, w tym prawidłowe funkcjonowanie mitochondriów, choć zależność między jej nagromadzeniem a dysfunkcją tych organelli nie została jeszcze w pełni wyjaśniona. W neuronach dotkniętych obecnością mHtt obserwuje się znaczące zmiany w szlakach metabolicznych odpowiedzialnych za produkcję energii. Dochodzi do nasilenia oksydacji kwasów tłuszczowych w celu kompensacji obniżonego metabolizmu glukozy, co wynika m.in. z hamującego wpływu mHtt na aktywność dehydrogenazy pirogronianowej [44].

Meldonium łagodzi dysfunkcję mitochondriów zarówno w modelach *in vitro*, jak i *in vivo* choroby Huntingtona. W badaniach *in vitro* przeprowadzonych w liniach komórkowych wykazano, że MD zmniejsza cytotoksyczność wywołaną przez mHtt poprzez hamowanie tworzenia wewnątrzkomórkowych agregatów tego białka. Warto podkreślić, że

efekty terapeutyczne meldonium nie są wynikiem zmiany poziomu L-karnityny w neuronach ani naśladowania jej działania w OUN, ponieważ w przeciwieństwie do MD, L-karnityna wykazuje ograniczone właściwości neuroprotekcyjne w przebiegu HD. Nie chroni mitochondriów przed szkodliwym działaniem agregatów mHtt, a zwiększenie jej stężenia w formie wolnej nie prowadzi do zmian w procesach metabolicznych w neuronach. Korzystny wpływ L-karnityny w HD ogranicza się do wspomaganie eksportu długolancuchowych kwasów tłuszczowych w postaci acylolokarnityn z cytoplazmy do krwiobiegu. Mechanizm ten jest jednak niewystarczający, aby skutecznie opóźnić postęp choroby i zapobiec dalszemu pogorszeniu stanu pacjentów [45].

Terapeutyczne działanie meldonium najprawdopodobniej wynika z inicjacji szlaków sygnałowych zależnych od PGC-1α. Długoterminowa suplementacja MD prowadzi do aktywacji tego szlaku w neuronach dotkniętych HD, co wspomaga biogenezę mitochondriów, utrzymanie homeostazy energetycznej oraz wzmacnia obronę antyoksydacyjną [46]. Do czynników wpływających na transkrypcję zależną od PGC-1α należą m.in. czynnik wzmacniający miocyty typu 2 (MEF2, ang. *myocyte enhancer factor 2*), białko Forkhead box typu O1 (FoxO1, ang. *forkhead box class O1*), białko wiążące elementy odpowiedzi na cAMP (CREB, ang. *cAMP response element-binding protein*) oraz białka z rodziny PPARs. Czynniki te ulegają aktywacji przez różnorodne bodźce zewnętrzne, takie jak cytokiny, aktywność fizyczna czy ekspozycja na niskie temperatury [47].

Aktywacja białka PPAR- γ powoduje stopniowe zmniejszenie toksyczności wywołanej przez mHtt w komórkach prądkowia oraz zapobiega obniżeniu ekspresji PGC-1 α w mózgu myszy z HD. Bezafibrat, będący agonistą PPAR- α , wykazuje zdolność do promowania biogenezy mitochondriów oraz przywraca prawidłowy poziom ekspresji PGC-1 α , innych białek PPARs oraz ich genów docelowych w modelach zwierzęcych HD. Ponieważ MD wpływa na funkcje białek z rodziny PPARs w kardiomiocytach m.in. poprzez zmniejszenie aktywności CPT1, niewykluczone, że w neuronach dotkniętych HD działa w analogiczny sposób, inicjując szlaki sygnałowe zależne od PGC-1 α , co zapobiega dysfunkcji mitochondriów [45,46]

MELDONIUM W CHOROBIE PARKINSONA

W chorobie Parkinsona (PD, ang. *Parkinson's Disease*) dysfunkcja mitochondriów, niekontrolowana apoptoza neuronów, stany zapalne oraz aktywacja mikrogleju przyczyniają się do postępującej degeneracji neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej śródmózgowia (łac. *substantia nigra*). Zidentyfikowano szereg mutacji genetycznych związanych z rozwojem PD, występujących m.in. w genach kodujących α -synukleinę, kinazę typu 2 z powtórzeniami bogatymi w leucynę (LRRK2, ang. *leucine-rich repeat kinase 2*) oraz receptor 5-hydroksytryptaminy typu 2A (HTR2A, ang. *5-hydroxytryptamine receptor 2A*). Zmiany te prowadzą do upośledzenia produkcji dopaminy i zaburzeń w transmisji sygnałów w neuronach dopaminergicznych [48].

Meldonium wykazuje korzystny wpływ na komórki nerwowe dotknięte chorobą Parkinsona zarówno w modelach zwierzęcych PD, jak również u zwierząt, u których zmiany chorobowe wywołano poprzez podawanie AZT. MD osłabia infiltrację limfocytów w obrębie OUN oraz zmniejsza ekspresję białek związanych ze stanem zapalnym i apoptozą w neuronach dopaminergicznych tj. kwaśne białko włóknienkowe gleju (GFAP, ang. *glial fibrillary acidic protein*), cytochrom *c*, kaspazy-3 i zjonizowana cząsteczka adapterowa wiążącej wapń typu 1 (Iba1, ang. *ionized calcium-binding adapter molecule 1*) [49]. Ponadto meldonium wykazuje działanie ochronne wobec neurotoksyczności indukowanej 6-hydroksydopaminą (6-OHDA), selektywnie uszkadzając neurony dopaminergiczne i adrenergiczne poprzez modulowanie ekspresji białek [50].

W modelach zwierzęcych choroby Parkinsona MD zwiększa ekspresję białka szoku cieplnego Hsp70 (ang. *70-kilodalton heat shock protein*), które pełni funkcję endogennego białka chaperonowego i odgrywa istotną rolę w przebiegu choroby [51]. Białka szoku cieplnego są znane ze swoich właściwości cytoprotekcyjnych oraz zdolności do hamowania apoptozy, a niski poziom Hsp70 oraz agregacja α -synukleiny w ciałkach Lewy'ego wiążą się z progresją PD i niekorzystnym rokowaniem dla pacjenta. Meldonium może również wpływać na regulację szlaku ubiquitynowego w proteasomach, co ma szczególne znaczenie w patologii PD, ponieważ obecność ubiquitynowanych ciałek Lewy'ego w neuronach dopaminergicznych stanowi charakterystyczną cechę tej choroby [50].

MD stymuluje proliferację komórek progenitorowych, w których aktywowane są szlaki sygnałowe zależne od białek z rodziny Notch. Meldonium zwiększa ekspresję glejowego czynnika neurotroficznego (GDNF, ang. *glial cell line-derived neurotrophic factor*) oraz cząsteczki adhezyjnej komórek nerwowych (NCAM, ang. *neural cell adhesion molecule*), które odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi neuronów dopaminergicznych na bodźce zewnętrzne. NCAM reguluje adhezję komórkową oraz wzrost neuronów, natomiast GDNF inicjuje szlaki sygnałowe prowadzące do przeżycia i różnicowania. Ponadto GDNF wykazuje silne działanie dopaminotroficzne oraz wspomaga przywracanie ekspresji hydrolazy tyrozynowej w neuronach istoty czarnej. Zwiększona ekspresja NCAM i GDNF może być efektem zależnej od MD aktywacji szlaków Notch, które są istotne w procesie waskularyzacji oraz organogenezy podczas rozwoju OUN, szczególnie w kontekście gliogenezy. Należy jednak zaznaczyć, że dotychczas nie znaleziono jednoznacznych dowodów na bezpośredni udział białek z rodziny Notch, takich jak Notch-3, w patogenezie PD [49].

Komórki glejowe są uważane za obiecujący cel terapeutyczny w leczeniu PD, ponieważ aktywacja mikrogleju poprzedza śmierć neuronów dopaminergicznych we wczesnych stadiach choroby. Krótkotrwała gliozą może sprzyjać formowaniu nowych synaps oraz stymulować neurogenezę poprzez produkcję związków energetycznych i neurotrofin, jednak przewlekła aktywacja zapalna mikrogleju prowadzi do degeneracji neuronów lub demielinizacji. Aktywowany mikroglej i astroglej przyczyniają się do nadekspresji iNOS oraz cytokin prozapalnych, takich jak IL-1, IL-6 i TNF- α . Wykazano, że białko Iba1, którego ekspresja zwiększa się w aktywowanym mikrogleju, może być zaangażowane w rozwój PD. Suplementacja meldonium nie wpływa co prawda na poziom ekspresji białka Iba1 w istocie czarnej, ale prowadzi do zmniejszenia liczby komórek Iba1-pozytywnych [51].

MELDONIUM W CHOROBIE ALZHEIMERA

Choroba Alzheimera (AD, ang. *Alzheimer's disease*) to postępujące schorzenie neurodegeneracyjne charakteryzujące się stopniowym pogorszeniem funkcji poznawczych. Rozwój AD jest spowodowany gromadzeniem się blaszek amyloidowych β (A β , ang. *amyloid- β plaques*) oraz tworzeniem spletków neurofibrilarnych składających się z hiperfosforylowanego białka tau (MAPT, ang. *microtubule-associated protein tau*). Oba te procesy przyczyniają się do zaburzeń synaptycznych i utraty aktywności neuronalnej, szczególnie w obrębie hipokampu oraz kory mózgowej. W przebiegu AD obserwuje się również przewlekłe stany zapalne oraz dysfunkcję mitochondriów wywołaną stresem oksydacyjnym [52].

U szczurów z chorobą Alzheimera MD poprawia funkcje poznawcze oraz zdolność zapamiętywania poprzez regulację ekspresji białek kluczowych dla wspomnianych wcześniej procesów. Należą do nich: acetylocholinoesteraza (AChE), która odpowiada za rozkład acetylocholino, dekarboksylaza kwasu glutaminowego 65/67 (GAD65/67, ang. *glutamic acid decarboxylase 65/67*), białko związane z wzro-

stem typu 43 (GAP-43, ang. *growth-associated protein 43*) oraz czynniki transkrypcyjne c-Jun i białko aktywujące typu 1 (AP-1, ang. *activator protein 1*), które uczestniczą w regulacji przeżycia i różnicowania komórek progenitorowych. Co bardzo istotne, meldonium może redukować liczbę włókien nerwowych pozytywnych dla AChE [51].

W modelach mysich wykazano, że MD istotnie zmniejsza obciążenie neuronów nagromadzeniem A β w regionie hipokampa. Podawanie wysokich dawek meldonium prowadzi do zredukowania akumulacji A β u zwierząt z depozycją A β w mięszu mózgu oraz amyloidozą naczyniową. MD może również stymulować aktywność komórek mikrogleju, co prowadzi do zmniejszenia obciążenia A β w hipokampie oraz poprawy deficytów pamięci. Należy jednak zaznaczyć, że bezpośrednia korelacja pomiędzy usuwaniem A β a aktywacją mikrogleju nie została dotychczas potwierdzona. Wykazano, że meldonium nie wpływa na poziom ekspresji markerów plastyczności synaptycznej, takich jak GAP-43 i GAD67 w całym hipokampie, może jednak zwiększać ekspresję tych białek w wybranych obszarach, tj. warstwa oriens (*stratum oriens*) oraz warstwa piramidowa regionu CA1. W regionie CA1 meldonium wykazuje działanie hamujące wobec ekspresji AChE. Inhibicja aktywności AChE była jedną z pierwszych strategii terapeutycznych stosowanych w leczeniu AD, ukierunkowanym na łagodzenie deficytów poznawczych. Obniżenie ekspresji AChE w regionie CA1 prowadzi do wzrostu poziomu acetylocholiny, co sprzyja poprawie funkcjonowania tego obszaru, szczególnie w kontekście procesów uczenia się [53].

Alternatywny mechanizm terapeutycznego działania meldonium w AD uwzględnia poprawę przepływu krwi przez naczynia mózgowe. W konsekwencji zależnego od MD zwiększenia przepuszczalności śródbłonna naczyniowego dochodziłoby do łatwiejszego usuwania rozpuszczalnych form A β z OUN. Meldonium prawdopodobnie stymuluje ten proces poprzez podwyższenie poziomu GBB, co prowadzi do nasilonej produkcji NO i poprawy funkcjonowania naczyń krwionośnych [16,53].

Kolejnym mechanizmem mogącym wyjaśnić neuroprotekcyjne działanie MD w chorobie Alzheimera jest koncepcja „sieci witagenów”, ponieważ pozytywny wpływ L-karnityny na OUN wynika właśnie z aktywacji witagenów regulujących m.in. ekspresję białek szoku cieplnego. Wykazano, że meldonium stymuluje ekspresję Hsp70 w regionach prądkowia i istoty czarnej uszkodzonych przez 6-OHDA [50]. Dokładny mechanizm w jaki MD wpływa na odpowiedź komórkową zależną od HSP w chorobie Alzheimera, nie został dotąd w pełni wyjaśniony. Wstępne hipotezy sugerują, że MD może aktywować określone szlaki sygnałowe, naśladując działanie acetylo-L-karnityny, która wykazuje właściwości neuroprotekcyjne, ponieważ chroni neurony kory mózgowej przed stresem oksydacyjnym i neurotoksycznością wywołaną przez A β 42 – szczególnie toksyczną formę amyloidu β o wysokiej zdolności do tworzenia agregatów [54].

W modelach zwierzęcych AD wykazano, że podanie meldonium nie powoduje poprawy podstawowej aktywności motorycznej ani nie zmniejsza poziomu lęku, oceniane-

go przy użyciu testu otwartego pola oraz testu labiryntu. Stwierdzono jednak, że MD korzystnie wpływa na wybrane funkcje społeczne, które u gryzoni są silnie związane z aktywnością neuronalną w obrębie hipokampa. Zaburzenia socjalizacji i nieprawidłowe zachowania społeczne są uznawane za charakterystyczne objawy nie tylko AD, ale także wielu innych chorób o podłożu psychiatrycznych tj. autyzm i schizofrenia. W związku z tym meldonium może stanowić potencjalny środek terapeutyczny w leczeniu szerokiego spektrum schorzeń związanych z upośledzeniem funkcji społecznych. Co więcej, deficyty w zakresie relacji interpersonalnych są obserwowane również w przewlekłej depresji, co czyni ją kolejnym potencjalnym celem terapii z użyciem MD [55].

MELDONIUM I COVID-19

Rozwój choroby koronawirusowej 2019 (COVID-19) wiąże się z wysoką śmiertelnością, głównie z powodu zespołu ostrej niewydolności oddechowej oraz powikłań sercowo-naczyniowych. U pacjentów zakażonych wirusem SARS-CoV-2 obserwuje się istotne zaburzenia w metabolizmie lipidów, obejmujące zmiany w poziomie kwasów tłuszczowych oraz acylokarnityn, zarówno w osoczu, jak i w erytrocytach [56]. Osoby ze schorzeniami upośledzającymi bioenergetykę mitochondrialną, takimi jak cukrzyca i nadciśnienie, wykazują zwiększone ryzyko zgonu z powodu COVID-19. U znacznej liczby pacjentów hospitalizowanych z powodu zakażenia SARS-CoV-2 zaobserwowano dysfunkcję komórek serca powiązaną z uszkodzeniami płuc, nadciśnieniem płucnym oraz podwyższonym poziomem cytokin prozapalnych [57].

Ponieważ poprawa funkcji mitochondriów stanowi obiecującą strategię walki ze skutkami COVID-19, meldonium może znaleźć zastosowanie jako potencjalny środek wspomagający leczenie najcięższych przypadków zakażenia wirusem. W modelach zwierzęcych wykazano, że MD hamuje rozwój niewydolności prawej komory serca (RV, ang. *right ventricular*) indukowanej nadciśnieniem płucnym i jednocześnie zapobiega dysfunkcji skurczowej LV spowodowanej stanem zapalnym. Poprawa funkcji RV po zastosowaniu meldonium nie wiąże się ze zmianami w naczyniach płucnych ani z istotnymi wahaniami ciśnienia. Natomiast poprawa funkcji LV zachodzi niezależnie od procesów prowadzących do redukcji stanu zapalnego. W związku z tym MD może być stosowane jako element terapii wspomagającej u pacjentów zakażonych wirusem SARS-CoV-2 w połączeniu z lekami zmniejszającymi opór naczyniowy w krążeniu płucnym, co ogranicza przebudowę RV, jak również z lekami o działaniu przeciwzapalnym w celu poprawy funkcji serca w przebiegu nasilonej odpowiedzi zapalnej oraz burzy cytokinowej [58].

Niewydolność RV, spowodowana zaburzeniami metabolizmu energetycznego mięśnia sercowego, może być związana z obniżoną ekspresją białek PPARs oraz PGC-1 α [59]. Aktywacja szlaku PPAR/PGC-1 α stanowi więc jeden z potencjalnych mechanizmów działania meldonium u chorych na COVID-19. Dodatkowo MD odwraca dysfunkcję kompleksu I mitochondriów we włóknach mięśnia sercowego i przywraca wydajność fosforylacji oksydacyjnej w kardio-

miocytach RV poprzez szlak PPAR/PGC-1 α . Innym potencjalnym efektem terapeutycznym meldonium w leczeniu pacjentów z COVID-19 jest działanie stymulujące systemy ochronne przed stresem oksydacyjnym [58]. W niektórych przypadkach zarażenia SARS-CoV-2 uszkodzenie serca było spowodowane powstawaniem zakrzepów wewnątrzsercowych oraz ostrym niedokrwieniem mięśnia sercowego. Oba te procesy są związane ze zwiększoną produkcją ROS w kardiomiocytach i śródbłonku naczyniowym [60], więc stanowią potencjalny cel terapii z użyciem MD [58].

BEZPIECZEŃSTWO STOSOWANIA MELDONIUM

Większość badań oceniających ryzyko związane z przyjmowaniem MD koncentrowała się na chorobach sercowo-naczyniowych i obejmowała krótki okres suplementacji (10–20 dni). Jednak w kontekście chorób układu nerwowego pozytywne efekty stosowania meldonium są zazwyczaj obserwowane dopiero po długotrwałym leczeniu. Należy zaznaczyć, że nie zostało jednoznacznie potwierdzone czy przedłużona „przebudowa metaboliczna” wywołana przez MD może mieć szkodliwy wpływ na narządy o wysokim zapotrzebowaniu energetycznym ani czy wywołane suplementacją meldonium obniżenie poziomu L-karnityny może niekorzystnie wpływać na funkcjonowanie układu nerwowego. W przypadku gryzoni doustna dawka LD₅₀ dla MD wynosi 20 000 mg/kg, jednak wykazano, że znacznie niższe dawki mogą prowadzić do niepożądanych efektów. Długotrwałe podawanie meldonium w modelach zwierzęcych prowadzi do zmian w ekspresji genów w komórkach wątroby, serca i mózgu, a także do istotnych zmian behawioralnych. MD może także powodować dysbiozę, objawiającą się wzrostem poziomu bakterii z grupy *Proteobacteria* w mikrobiomie jelitowym [61].

Początkowe założenia dotyczące stosowania meldonium u ludzi uwzględniały jego szybki czas eliminacji z organizmu oraz ograniczoną kumulację w tkankach. Okazało się jednak, że szacowany czas aktywności MD przed rozpoczęciem pierwszej fazy eliminacji wynosi około 5–15 godzin [62]. Później następuje druga, znacznie dłuższa faza eliminacji, wynikająca z wnikania meldonium do erytrocytów oraz jego stopniowego uwalniania podczas eryptozy, czyli programowanej śmierci czerwonych krwinek, na drodze zależnej od stresu oksydacyjnego lub szoku osmotycznego. Po jednorazowym podaniu doustnym MD jest wykrywany w ludzkim moczu przez okres do 49 dni, zaś w suchych kroplach krwi przez co najmniej 16 dni. Biorąc pod uwagę, że meldonium jest często podawane w dawkach powtarzalnych i wykazuje wyraźny potencjał do kumulacji w organizmie, długotrwałe stosowanie terapeutyczne może skutkować utrzymywaniem się w krwioobiegu i w tkankach przez kilka tygodni, a nawet miesięcy [63].

Przedawkowanie MD może prowadzić do szeregu negatywnych efektów obejmujących układ sercowo-naczyniowy, nerwowy oraz pokarmowy. Do najczęściej występujących objawów zalicza się arytmie, bradykardię, obniżone ciśnienie tętnicze, bóle i zawroty głowy oraz ogólne osłabienie [64]. Wśród działań niepożądanych występują także reakcje alergiczne, takie jak zaczerwienienie, wysypka, świąd oraz obrzęk, objawy dyspeptyczne, a nawet pobudzenie

psychoruchowe. Mimo braku jednoznacznych dowodów przypuszcza się, że odpowiedź na suplementację meldonium może różnić się w zależności od płci. W modelach zwierzęcych samice gryzoni wykazują większą wrażliwość na wysokie dawki MD w porównaniu do samców. Z kolei w badaniach klinicznych z udziałem ludzi zaobserwowano, że kobiety charakteryzują się wyższym stężeniem meldonium w osoczu krwi oraz wolniejszym tempem jego wydalania, co może sugerować większą podatność na działanie MD, a zarazem wyższą cytotoksyczność [65].

Niektóre wyniki uzyskane przez radzieckich naukowców należy traktować z ostrożnością, zwłaszcza te opisujące rzekomą regulacyjną rolę meldonium w bardzo szerokim zakresie procesów biochemicznych zachodzących w komórkach, tj. stymulacja replikacji, naprawy i metylacji DNA, zwiększenie aktywności polimerazy RNA w izolowanych neuronach, modulacja funkcjonowania receptorów błonowych oraz wtórnych przekazników [66,67]. Bardziej wiarygodne, współczesne badania wykazały, że meldonium nie wykazuje właściwości mutagennych, co potwierdzono w badaniach z użyciem *Salmonella typhimurium* [16] i *Drosophila melanogaster* [45], ani właściwości rakotwórczych, co wykazano w eksperymentach na gryzoniach [16]. MD podawane w dawkach przekraczających wartości terapeutyczne może prowadzić do nadmiernego gromadzenia lipidów w wątrobie, jednak procesowi temu zazwyczaj nie towarzyszą zaburzenia funkcji wątroby ani podwyższona akumulacja lipidów w sercu i naczyniach wieńcowych. U zwierząt poddanych głodówce meldonium może wywoływać objawy stłuszczenia wątroby, jednak z reguły mają one charakter przejściowy i ustępują po wznowieniu karmienia. Wyniki te sugerują, że wpływ MD na metabolizm wątroby jest prawdopodobnie ściśle zależny od diety, co podkreśla konieczność dalszych badań w tej tematyce [68].

Nie stwierdzono, by długotrwała suplementacja meldonium prowadziła do podwyższenia stężenia kreatyniny, całkowitej bilirubiny, całkowitego cholesterolu ani glukozy we krwi. Nie przyczynia się również do zwiększenia aktywności enzymów wątrobowych. W modelach zwierzęcych wykazano natomiast, że MD poprawia wydolność seksualną. Długotrwałe podawanie meldonium zwiększa ruchliwość plemników u knurów, co może być związane z podwyższonym poziomem testosteronu w surowicy, zwiększoną grubością nabłonka spermatogennego oraz intensywną proliferacją komórek Leydiga [69].

MD zostało zatwierdzone jako środek terapeutyczny w leczeniu ostrych i przewlekłych schorzeń niedokrwienych krążenia mózgowego w Rosji, Łotwie, Ukrainie, Gruzji, Kazachstanie, Azerbejdżanie, Białorusi, Uzbekistanie, Mołdawii i Kirgistanie. Meldonium stosowane jest również w celu zwiększenia wydolności fizycznej oraz łagodzenia zmęczenia fizycznego i psychoemocjonalnego. Na Łotwie lek ten jest przepisywany w ramach rehabilitacji pacjentów po urazach mózgu oraz zapaleniu mózgu. Ponadto w Rosji, Ukrainie, Gruzji, Kazachstanie, Azerbejdżanie, Białorusi, Uzbekistanie, Mołdawii i Kirgistanie MD znajduje zastosowanie w leczeniu zespołu abstynencyjnego u pacjentów z przewlekłym alkoholizmem.

Należy jednak zaznaczyć, że nie wszystkie aspekty stosowania meldonium zostały wystarczająco zbadane. Zakwalifikowanie MD jako niedozwolonego środka wspomagającego wydolność fizyczną przez Światową Agencję Antydopingową (WADA, ang. *World Anti-Doping Agency*), a także nałożenie kar na sportowców za jego stosowanie przyczyniły się do spadku zainteresowania badaniami nad meldonium w środowisku naukowym. Społeczność naukowa w krajach zachodnich wykazuje sceptycyzm względem leków opracowanych w byłym ZSRR, co nie jest bezpodstawne. Zachodnie standardy badań klinicznych, takie jak randomizacja, podwójnie ślepe próby oraz stosowanie kontroli placebo, były w dużej mierze ignorowane w ZSRR, ponieważ radzieccy naukowcy uznawali je za nieetyczne wobec uczestników badań. „Socjalistyczna farmaceutyka” kładła większy nacisk na skuteczność i praktyczne zastosowanie leków niż na kontrolowane badania laboratoryjne [70].

Pierwsze badania kliniczne z udziałem ludzi, prowadzone zgodnie z zachodnimi standardami, rozpoczęły się w Rydze w 2006 roku, jednak zostały przedwcześnie zakończone. Badania drugiej fazy, mające na celu ocenę bezpieczeństwa, skuteczności i optymalnej dawki, zostały wstrzymane przez firmę finansującą projekt, która jednocześnie była producentem leku. Działanie to stanowiło naruszenie przepisów dotyczących badań klinicznych i pozostawiło kluczowe pytania dotyczące bezpieczeństwa oraz skuteczności MD bez odpowiedzi. Mimo to, meldonium wciąż znajduje zastosowanie w medycynie. Zalecana dzienna dawka leku wynosi zwykle od 500 do 1 000 mg, a terapia trwa od 10 do 20 dni [65].

Co istotne z epidemiologicznego punktu widzenia, meldonium może zostać wprowadzone do organizmu człowieka w wyniku nieintencjonalnego spożycia. Badania wykazały, że *Emidonol*, lek weterynaryjny stosowany u bydła oraz jako dodatek do wody pitnej dla drobiu, ulega rozpadowi, w wyniku którego powstają cząsteczki MD. Proces ten skutkuje obecnością meldonium w surowym mleku oraz w mięsie zwierząt. Pasteryzacja częściowo redukuje stężenie MD w mleku, natomiast obróbka cieplna usuwa MD z mięsa, jednak żaden z tych procesów nie charakteryzuje się pełną skutecznością eliminacji. Choć brak jednoznacznych dowodów na to, że meldonium w niewielkich dawkach stanowi bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia ludzi, jego stosowanie jest zabronione w profesjonalnym sporcie zgodnie z przepisami WADA. W wyniku podawania zwierzętom *Emidonolu* sportowcy mogą nieświadomie przyjmować MD, narażając się tym samym na konsekwencje prawne wynikające z naruszenia przepisów antydopingowych [71].

NOWE ODKRYCIA DOTYCZĄCE MELDONIUM

MELDONIUM W CHOROBAH UKŁADU KRAŻENIA

Choć meldonium wciąż jest mało popularnym obiektem eksperymentów naukowych, kolejne grupy badaczy podejmują próby lepszego zrozumienia jego roli w procesach metabolicznych, co otwiera nowe perspektywy dotyczące potencjalnych zastosowań w medycynie.

Zwiększona aktywność fizyczna może prowadzić do uszkodzeń mitochondrialnego DNA (mtDNA) w kardiomiocytach, czego skutkiem jest wzrost ilości sprzężonych dienów oraz spadek poziomu GSH w komórkach. Badania w modelach zwierzęcych wykazały, że MD oprócz bezpośredniego stymulowania systemu ochrony przed stresem oksydacyjnym, przyczynia się do podwyższenia ekspresji peroksyredoksyn 3 i 5 w kardiomiocytach. Są to kluczowe białka odpowiedzialne za utrzymanie prawidłowego statusu oksydacyjnego grup tiolowych oraz za regulację poziomu GSH, co stanowi kolejny dowód na udział meldonium w regulacji odpowiedzi antyoksydacyjnej komórek, tym razem w sposób niezależny od enzymów takich jak SOD, czy CAT [38].

Potwierdzony w badaniach korzystny wpływ MD na funkcjonowanie śródbłónki naczyniowej stanowił punkt wyjścia do oceny potencjalnego zastosowania meldonium w leczeniu przewlekłych zespołów bólowych, takich jak neuropatia obwodowa i złożony zespół bólu regionalnego (CRPS, ang. *complex regional pain syndrome*), które są spowodowane dysfunkcją naczyń krwionośnych w następstwie hipoksji. Ból obwodowy może być wynikiem cukrzycy, urazu lub efektem ubocznym chemioterapii. U pacjentów stwierdza się zaburzenia krążenia w mikronaczyniach kończyn spowodowane działaniem czynników zwężających światło naczyń, takich jak katecholaminy i endotelina-1, przy jednoczesnym zahamowaniu produkcji czynników rozszerzających naczynia, przede wszystkim tlenu azotu [72]. NO w swojej natywnej postaci wykazuje korzystne działanie na śródbłonek naczyniowy, jednak w warunkach podwyższonego stresu oksydacyjnego nadmiar ROS przyczynia się do powstawania toksycznych RNS. Terapeutyczne wykorzystanie NO w leczeniu dysfunkcji mikrokrążenia w stanach charakteryzujących się nasilonym stresem oksydacyjnym wymaga zastosowania strategii mającej na celu redukcję ilości wolnych rodników, co zapobiega dezaktywacji NO i minimalizuje ryzyko powstawania RNS.

Przy zastosowaniu modeli zwierzęcych udowodniono, że miejscowe podawanie meldonium w terapii łącznej z N-acetylocysteiną (NAC) znacząco zwiększa lokalne stężenie NO, jednocześnie ograniczając ROS i RNS, co przeciwdziała dysfunkcji śródbłónki w przewlekłym uszkodzeniu nerwów oraz w neuropatii obwodowej wywołanej chemioterapią. Efekty podania mieszanek MD-NAC zostają zniesione przez nieselektywne inhibitory NOS [73]. Jednak zastosowanie długotrwałej terapii oraz dawek podtrzymujących sprzyja częściowej regeneracji tkanek prowadzącej do poprawy stanu zwierząt i ustąpienia bólu.

Wykazano, że meldonium może mieć potencjalne zastosowanie w leczeniu anemii sierpowatej, chorobie genetycznej związanej z nieprawidłową strukturą hemoglobiny. To schorzenie charakteryzuje się występowaniem anemii hemolitycznej oraz przewlekłych stanów zapalnych, które wpływają na narządy takie jak nerki, wątroba, mózg, śledziona i serce. W modelach zwierzęcych anemii sierpowatej MD zmniejsza poziom stanu zapalnego w erytrocytach i komórkach nerkowych oraz obniża stężenie cytokin prozapalnych, w tym IFN- γ , IL-1, IL-17, IL-6, IL-10 i TNF- α w osoczu

krwi [74]. Dodatkowo meldonium redukuje ekspresję Nrf2 i HMOX1, które odgrywają kluczową rolę w katabolizmie hemoglobiny oraz w ochronie tkanek przed uszkodzeniami wywołanymi hemolizą. Co istotne, nie stwierdzono, aby suplementacja MD wpływała na poziom ekspresji NF- κ B-p65 oraz HIF-1 α ani też aby wywierała istotny efekt antyoksydacyjny w przebiegu choroby. Prawdopodobnie terapeutyczne efekty meldonium w anemii sierpowatej ograniczają się do poprawy funkcji nerek poprzez redukcję stanu zapalnego w krążeniu oraz w tkance nerkowej i nie są związane z przeciwdziałaniem stresowi oksydacyjnemu.

MELDONIUM W CHOROBAH UKŁADU NERWOWEGO

Najnowsze badania z wykorzystaniem meldonium w zwierzęcym modelu zwężenia środkowej tętnicy mózgowej wykazały zwiększoną produkcję ATP w korze mózgowej i hipokampie. Udowodniono również, że MD hamuje nadmierne otwieranie porów przejściowych błony mitochondrialnej (mPTP, ang. *mitochondrial permeability transition pore*), co zapobiega uwalnianiu cytochromu c oraz aktywacji kaskady kaspaz oraz uniemożliwia komórce wejście na drogę apoptozy. Jednocześnie meldonium aktywuje szlak sygnałowy Akt/GSK-3 β , blokując tym samym ekspresję białek zaangażowanych w szlaki apoptotyczne zależne od mitochondriów. Aktywacja szlaku Akt/GSK-3 β stanowi dodatkowy mechanizm hamujący uwalnianie cytochromu c do cytoplazmy, dzięki czemu zapobiega aktywacji kaspazy-3 i redukuje ryzyko apoptozy neuronów.

Suplementacja MD pozwala na zachowanie prawidłowego potencjału błony mitochondrialnej ($\Delta\psi_m$), także w warunkach niedoboru tlenu i glukozy, jak również podczas ponownego utleniania po epizodzie ischemii OGD/R (ang. *oxygen-glucose deprivation and reoxygenation*) [75]. Meldonium wykazuje bowiem działanie ochronne wobec białek zaangażowanych w funkcjonowanie mitochondriów podczas uszkodzenia OGD/R. Znacząco zwiększa ekspresję Mitofusin 1 i 2 (MFN1/2), które biorą udział w procesie fuzji mitochondriów, a dodatkowo wpływa na ekspresję białka atrofii nerwu wzrokowego typu 1 (OPA1, ang. *optic atrophy type 1*), które utrzymuje morfologię, integralność i funkcję mitochondriów poprzez regulację dynamiki błony mitochondrialnej. MD zwiększa także ekspresję fosforylowanego Drp1 (p-Drp1^{S637}), co poprawia morfologię mitochondriów w neuronach poddanych OGD/R, obniżając ryzyko nadmiernego fragmentowania mitochondriów wywołanego przez zaburzenia równowagi między fuzją a podziałem organelli. Ponadto meldonium może przyczynić się do nasilenia produkcji ATP, dzięki czemu poprawia wskaźnik zużycia tlenu oraz wskaźnik wypływu protonów w neuronach poddanych uszkodzeniom zależnym od OGD/R. Oba te wskaźniki umożliwiają ocenę stanu mitochondriów, dlatego ich poprawa w warunkach ograniczonego stężenia tlenu i glukozy po zastosowaniu MD stanowi dowód na poprawę funkcji energetycznej komórek [75].

W warunkach hipoksji meldonium może hamować uszkodzenia neuronów oraz zapobiegać rozpadowi ciałek Nissla w regionie CA3 hipokampa, gdzie komórki są szczególnie wrażliwe na niedotlenienie, niedokrwienie, hipoglikemię i ekscytotoksyczność. MD aktywuje czynnik

indukowany hipoksją 1- α (HIF-1 α , ang. *hypoxia-inducible factor 1-alpha*) oraz reguluje kluczowe enzymy metaboliczne zaangażowane w glikolizę, w tym GLUT1, MCT4 i PDHA1. Meldonium wiąże się bezpośrednio z fosfoglicerynianokinazą typu 1 (PGK1, ang. *phosphoglycerate kinase 1*), stymulując jej aktywność w warunkach silnej hipoksji, a dodatkowo zwiększa ekspresję PGK1 w neuronach hipokampa. PGK1 oraz białko związane z receptorem TNF typu 1 (TRAP1, ang. *TNF receptor-associated protein 1*), będące mitochondrialnym homologiem białek szoku cieplnego, ulegają kolokalizacji w mitochondriach, co prowadzi do inicjacji szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za uszkodzenia tych organelli. MD przeciwdziała tym procesom poprzez blokowanie translokacji PGK1 do mitochondriów. Tym samym, w warunkach hipoksji meldonium nie tylko aktywuje PGK1 w celu poprawy metabolizmu energetycznego, ale także łagodzi uszkodzenia mitochondriów związane z translokacją PGK1 i jego interakcją z TRAP1.

Warto podkreślić, że ekspresja zmutowanej wersji białka PGK1 jest związana z procesem nowotworzenia, ponieważ PGK1 pełni funkcję kinazy białkowej zaangażowanej w regulację metabolizmu mitochondrialnego, autofagii oraz procesy naprawy DNA. Ponadto niedobór PGK1 został powiązany z rozwojem choroby Parkinsona, dziedziczną asferyczną anemią hemolityczną oraz innymi dysfunkcjami neurologicznymi. Udział MD w regulacji funkcji PGK1 może mieć potencjalne zastosowanie w leczeniu wielu różnych schorzeń, nie tylko OGD/R [76].

W badaniach z udziałem zwierząt, uzupełnionych eksperymentami w liniach komórkowych udowodniono, że meldonium stanowi potencjalny środek terapeutyczny w leczeniu pierwotnej jaskry otwartego kąta (POAG, ang. *primary open-angle glaucoma*), która jest chorobą neurodegeneracyjną charakteryzującą się obumieraniem komórek zwojowych siatkówki oraz degeneracją jądra ciała kolankowatego bocznego i kory wzrokowej. Głównym czynnikiem ryzyka POAG jest podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe, wynikające ze zwiększonej oporności na odpływ cieczy wodnistej (AH, ang. *aqueous humor*) z komory przedniej oka. Oporność ta występuje na poziomie sieci beleczkowej (TM, ang. *trabecular meshwork*) i prowadzi do wzrostu ciśnienia wewnątrzgałkowego.

W modelu szczurzym POAG meldonium wykazuje właściwości hipotensyjne [77]. Efekt ten wydaje się być związany ze zmianą funkcjonowania naczyń krwionośnych, co prowadzi do zwiększonej przepuszczalności sieci TM i poprawy odpływu AH. Mechanizm działania MD najprawdopodobniej wynika z reorganizacji cytoszkieletu w komórkach śródbłónki naczyniowej następującej na skutek zwiększonej ekspresji winkuliny – białka kluczowego dla adhezji punktowej i regulacji migracji komórek. Komórki pozbawione winkuliny nie mogą bowiem formować lamellipodiów, a tym samym skutecznie rozplaszczają się na podłożu. Tym samym meldonium, regulując aktywność winkuliny, przyczynia się do unieruchomienia komórek TM poprzez adhezję punktową oraz zmniejsza ich motorykę, co prowadzi do zwiększenia przepuszczalności śródbłónki i ułatwienia odpływu AH. Podobne zmiany dotyczą fibroblastów twardówki. Ograniczenie ich migracji zmniejsza

sza ryzyko zwłóknienia w obrębie nerwu wzrokowego oraz wydłuża korzyści płynące z zabiegów chirurgicznych. Ponadto MD wykazuje działanie przeciwwzapalne w POAG, a jednocześnie nie wykazuje toksyczności podczas aplikacji bezpośrednio na powierzchnię oka. Dzięki temu krople do oczu zawierające meldonium mogą być stosowane przez długi czas po operacji, umożliwiając kontrolę procesów zwłóknienia pooperacyjnego.

Doniesienia naukowe sugerują, że objawy choroby wysokogórskiej (ang. *high-altitude injury*) mogą zostać złagodzone poprzez zastosowanie MD. Środowiska wysokogórskie są uznawane za niebezpieczne dla ludzi ze względu na szereg czynników fizycznych, takich jak obniżone stężenie tlenu, niskie ciśnienie atmosferyczne, niskie temperatury, mniejsza wilgotność powietrza oraz zwiększona ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe. OUN jest szczególnie narażony na hipoksję wywołaną przez chorobę wysokogórską, prowadzącą do zmian hemodynamicznych w mózgu, gromadzenia toksycznych metabolitów, uwalniania cytokin, zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej, reakcji zapalnych oraz uszkodzeń mitochondriów. W badaniach w modelach zwierzęcych z wykorzystaniem komory symulacyjnej o niskim ciśnieniu i niskiej zawartości tlenu, wykazano, że meldonium przeciwdziała obniżeniu poziomu jonów wodorowęglanowych i dwutlenku węgla we krwi, które prowadzą do kwasicy metabolicznej [78]. Terapia z użyciem MD prowadzi do przywrócenia prawidłowego rytmu serca i ciśnienia krwi, zwiększenia przepływu krwi przez naczynia mózgowe, łagodzenia uszkodzeń płuc, a także przejawia działanie ochronne na procesy metaboliczne w obrębie serca, wątroby i nerek. Ponadto MD wykazuje właściwości regulacyjne dotyczące liczby czerwonych krwinek oraz poziomu hemoglobiny w odpowiedzi na obniżony poziom tlenu, a dodatkowo zwiększa poziom bursztynianu – metabolitu pośredniego w cyklu kwasu trójkarboksylowego, co sugeruje nasilenie metabolizmu w komórkach w celu utrzymania optymalnej produkcji energii w warunkach niedoboru tlenu.

RYZYSKO STOSOWANIA MELDONIUM

Najnowsze badania dostarczają dowodów na ryzyko związane ze stosowaniem MD, szczególnie w kontekście negatywnych skutków suplementacji dla narządów o wysokim tempie metabolizmu. Słuszczeniowa choroba wątroby związana z zaburzeniami metabolicznymi (MAFLD, ang. *metabolic dysfunction-associated fatty liver disease*) obejmuje szeroki zakres uszkodzeń: od prostego słuszczenia, przez niealkoholowe słuszczeniowe zapalenie wątroby (NASH, ang. *non-alcoholic steatohepatitis*) oraz słuszczeniowe zapalenie wątroby związane z dysfunkcją metaboliczną (MASH, ang. *metabolic dysfunction-associated steatohepatitis*), aż po zwłóknienie i marskość.

Słuszczenie wątroby wywołane przez stosowanie meldonium nie odzwierciedla w pełni patogenezy MAFLD, jednak wykazuje wiele cech wspólnych, takich jak dysfunkcja mitochondrialna związana ze zmniejszoną β -oksydacją kwasów tłuszczowych w mitochondriach. Ponadto wzrost poziomu triacylogliceroli w wątrobie spowodowany przez MD koreluje negatywnie z aktywnością elongazy kwasów

tłuszczowych i jest związany z wyższą aktywnością delta-6 desaturazy, co może sugerować wczesne stadium MAFLD. Zależne od MD słuszczenie wątroby, podobnie jak ma to miejsce w przypadku MAFLD, może zostać złagodzone poprzez zastosowanie kwasu tetradecyltiooctowego (TTA, ang. *tetradecylthioacetic acid*) – strukturalnie zmodyfikowanego kwasu tłuszczowego, który nie może ulegać β -oksydacji z powodu obecności atomu siarki podstawionego w pozycji 3 łańcucha węglowego [79].

Kolejnym argumentem wskazującym na potencjalne ryzyko związane ze stosowaniem meldonium jest wykazany w badaniach w modelach zwierzęcych wzrost śmiertelności w przebiegu zapalenia otrzewnej wywołanego kałem, która prowadzi do sepsy [80]. Proces ten prawdopodobnie zachodzi na drodze silnej reakcji prozapalnej oraz zaburzonego metabolizmu lipidów, co ostatecznie przyczynia się do niewydolności wielonarządowej. Niewykluczone, że mechanizmy leżące u podstaw przeciwwzapalnych właściwości MD mogą paradoksalnie przyczyniać się do zwiększonej śmiertelności obserwowanej w przebiegu sepsy. W przypadku krótkotrwałej hipoksji zainicjowanej przez zapalenie otrzewnej wywołane kałem, meldonium zamiast działania ochronnego dodatkowo upośledza procesy produkcji energii w komórkach, co prowadzi do dysfunkcji metabolicznej.

Udowodniono jednak, że w przypadku sepsy wywołanej podaniem LPS, suplementacja MD nie wiąże się z negatywnymi efektami, lecz wykazuje działanie ochronne [80]. Meldonium poprawia ogólną histologię wątroby i łagodzi stres oksydacyjny poprzez hamowanie aktywacji NF- κ B, choć procesom tym nie towarzyszą zmiany w ekspresji białka Nrf2. Natomiast w nerkach, MD zwiększa aktywność MnSOD, jednocześnie podnosząc stosunek GSH/GSSG, co sugeruje stymulujący wpływ na mechanizmy odpowiedzi na stres oksydacyjny. Wpływ meldonium na serce w trakcie sepsy wywołanej LPS pozostaje niejednoznaczny. Z jednej strony MD pogarsza stan histologiczny mięśnia sercowego, z drugiej jednak wspomaga układ obrony antyoksydacyjnej, co potwierdzają podwyższone poziomy GSH, CuZn-SOD, MnSOD, CAT oraz GPx. Ponadto MD ogranicza aż o 50% wzrost poziomu troponiny T – markera uszkodzenia mięśnia sercowego.

Najnowsze badania nad przemianami metabolicznymi meldonium w organizmie człowieka dostarczyły interesujących wyników dotyczących czynników zewnętrznych mogących wpływać na jego aktywność biologiczną. Wykazano, że procesy te zachodzą wolniej w obecności enzymów YeaX/YeaW z *E. coli*, które są zależnymi od tlenu oksydazami [81]. W związku z tym dobór dawki MD stosowanej w badaniach klinicznych powinien uwzględniać kwestie metabolizmu meldonium w przewodzie pokarmowym, ponieważ lek może podlegać inhibicji enzymatycznej katalizowanej przez oksydazy produkowane w bakterii jelitowych.

PRZYSZŁOŚĆ MELDONIUM

MD może nie być jedyną molekułą o potencjalnym działaniu terapeutycznym ukierunkowanym na szlaki metaboliczne związane z L-karnityną. W roku 2025 podjęto próbę

zsyntetyzowania heterocyklicznych pochodnych GBB w celu opracowania szerokiego zakresu analogów meldonium. W badaniach oceniających wpływ nowych związków na aktywność katalazy oraz zużycie L-karnityny, wszystkie cechowały się działaniem hamującym, a kilka z nich wykazało większą wydajność katalityczną niż MD, tym samym mogą stanowić potencjalną alternatywę terapeutyczną dla meldonium [82].

Warto zauważyć, że meldonium wykazuje strukturalne podobieństwo do naturalnej betainy, która pełni funkcję chaperonową i stabilizuje konformację białek [51]. Badania sugerują, że małe cząsteczki o optymalnych właściwościach farmakologicznych – takich jak obecność dodatnio naładowanych podstawników – mogą modulować interakcje między białkami. Dzięki temu wykazują duży potencjał jako środki terapeutyczne wpływające na liczne procesy biochemiczne w różnych typach komórek i tkanek [83]. Naśladowanie roli betainy może stanowić odrębną, wciąż niezbadaną gałąź procesów biochemicznych indukowanych suplementacją MD [51].

W kontekście stosowania MD w ramach niedozwolonego dopingu należy zaznaczyć, że zostało ono wpisane przez WADA na Listę Substancji Zakazanych dopiero w 2016 roku. W tym samym roku odnotowano 515 przypadków pozytywnych wyników w testach na obecność meldonium u sportowców, co stanowiło 12,2% wszystkich wykrytych przypadków dopingu, czyniąc MD najczęściej wykrywaną substancją dopingującą. Łącznie w latach 2016–2020 odnotowano 810 pozytywnych wyników na obecność meldonium u sportowców zawodowych mimo oficjalnego zakazu jego stosowania. Niewykluczone, że sportowcy będą poszukiwać alternatyw dla MD, do których można zaliczyć Mexidol oraz Cytoflavin. Oba związki zostały sklasyfikowane jako farmaceutyczne środki wspomagające wydolność u sportowców, jednak żaden z nich nie został wpisany na Listę Substancji Zakazanych ani objęty Programem Monitorującym prowadzonym przez WADA. Co ciekawe, jedna ze stron internetowych specjalizujących się w rozpowszechnianiu informacji o lekach produkowanych na terenie Federacji Rosyjskiej, sugeruje sportowcom alternatywne rozwiązanie w postaci telmisartanu, wskazując na jego potencjalne zastosowanie w kontekście „zwiększonej wydolności fizycznej”. Warto dodać, że telmisartan został w 2018 roku usunięty z Listy Substancji Zakazanych, która w przeważającej mierze obejmuje leki opracowane przez zachodnie firmy farmaceutyczne, podczas gdy jedynie nieliczne pochodzą z Europy Wschodniej. Wiele z tych substancji jest dostępnych na rynku i może być wykorzystywanych jako środki dopingujące [84].

Choć na podstawie dostępnych danych, meldonium może sprawiać wrażenie wszechstronnego czynnika terapeutycznego, nie stanowi uniwersalnego rozwiązania dla wszystkich schorzeń układu sercowo-naczyniowego oraz chorób neurodegeneracyjnych. Należy jednak zaznaczyć, że zakres potencjalnych zastosowań MD wciąż się poszerza, a najnowsze badania dostarczają kolejnych dowodów na regulowane przez ten związek szlaki biochemiczne. Tym samym historia zastosowania meldonium, zarówno w medycynie, jak i w niedozwolonym dopingu, nadal się rozwija.

Niewykluczone, że stoimy u progu kolejnego etapu odkryć związanych z MD obejmujących, być może, wykorzystanie w terapii chorób nowotworowych.

PIŚMIENNICTWO

1. Simkhovich BZ, Shutenko ZV, Meirena DV, Khagi KB, Mezapuke RJ, Molodchina TN, Kalvins IJ, Lukevics E (1988) 3-(2,2,2-Trimethylhydrazinium) propionate THP—a novel gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor with cardioprotective properties. *Biochem Pharmacol* 37: 195-202
2. Opie LH (1991) The heart: physiology and metabolism. W: Opie LH (red) The heart: physiology and metabolism. 2nd edn. Raven Press, New York, str. 208-246
3. Strand E, Pedersen ER, Svingen GF, Olsen T, Bjørndal B, Karlsson T, Dierkes J, Njølstad PR, Mellgren G, Tell GS, Berge RK, Svardal A, Nygård O (2017) Serum acylcarnitines and risk of cardiovascular death and acute myocardial infarction in patients with stable Angina pectoris. *J Am Heart Assoc* 6: e003620
4. Gnoni A, Longo S, Gnoni GV, Giudetti AM (2020) Carnitine in Human Muscle Bioenergetics: Can Carnitine Supplementation Improve Physical Exercise? *Molecules* 25: 182
5. Longo N, Frigeni M, Pasquali M (2016) Carnitine transport and fatty acid oxidation. *Biochim Biophys Acta* 1863: 2422-2435
6. Liepinsh E, Makrecka M, Kuka J, Cirule H, Makarova E, Sevostjanovs E, Grinberga S, Vilskersts R, Lola D, Loza E, Stonans I, Pugovics O, Dambrova M (2014) Selective inhibition of OCTN2 is more effective than inhibition of gamma-butyrobetaine dioxygenase to decrease the availability of L-carnitine and to reduce myocardial infarct size. *Pharmacol Res* 85: 33-38
7. Liepinsh E, Makarova E, Sevostjanovs E, Hartmane D, Cirule H, Zharkova-Malkova O, Grinberga S, Dambrova M (2017) Carnitine and gamma-Butyrobetaine Stimulate Elimination of Meldonium due to Competition for OCTN2-mediated Transport. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 120: 450-456
8. Liepinsh E, Skapare E, Kuka J, Makrecka M, Cirule H, Vavers E, Sevostjanovs E, Grinberga S, Pugovics O, Dambrova M (2013) Activated peroxisomal fatty acid metabolism improves cardiac recovery in ischemia-reperfusion. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 386: 541-550
9. Yonekura K, Eto Y, Yokoyama I, Matsumoto A, Sugiura S, Momomura S, Kirimoto T, Hayashi Y, Omata M, Aoyagi T (2000) Inhibition of carnitine synthesis modulates protein contents of the cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and hexokinase type I in rat hearts with myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 95: 343-348
10. Hayashi Y, Kirimoto T, Asaka N, Nakano M, Tajima K, Miyake H, Matsura N (2000) Beneficial effects of MET-88, a gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor in rats with heart failure following myocardial infarction. *Eur J Pharmacol* 395: 217-224.
11. Statsenko ME, Belenkova SV, Sporova OE, Shilina NN (2007) The use of mildronate in combined therapy of postinfarction chronic heart failure in patients with type 2 diabetes mellitus. *Klin Med (Mosk)* 85: 39-42
12. Liepinsh E, Vilskersts R, Zvejniece L, Svalbe B, Skapare E, Kuka J, Cirule H, Grinberga S, Kalvinsh I, Dambrova M (2009) Protective effects of mildronate in an experimental model of type 2 diabetes in Goto-Kakizaki rats. *Br J Pharmacol* 157: 1549-1556
13. Kuka J, Vilskersts R, Cirule H, Makrecka M, Pugovics O, Kalvinsh I, Dambrova M, Liepinsh E (2012) The cardioprotective effect of mildronate is diminished after co-treatment with L-carnitine. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 17: 215-222
14. Güler MC, Tanyeli A, Ekinci Akdemir FN, Eraslan E, Özbek Şebiri S, Güzel Erdoğan D, Nacar T (2022) An overview of ischemia-reperfusion injury: review on oxidative stress and inflammatory response. *Eurasian J Med* 54 (Suppl 1): S62-S65
15. Vilskersts R, Liepinsh E, Kuka J, Cirule H, Veveris M, Kalvinsh I, Dambrova M (2009) Myocardial infarct size-limiting and antiarrhythmic effects of mildronate orotate in the rat heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 23: 281-288

16. Vilks Sjakste N, Gutcaits A, Kalvinsh I (2005) Mildronate: an antiischemic drug for neurological indications. *CNS Drug Rev* 11: 151-168
17. Liepinsh E, Vilskersts R, Loca D, Kirjanova O, Pugovichs O, Kalvinsh I, Dambrova M (2006) Mildronate, an inhibitor of carnitine biosynthesis, induces an increase in gamma-butyrobetaine contents and cardioprotection in isolated rat heart infarction. *J Cardiovasc Pharmacol* 48: 314-319
18. Vilskersts R, Kuka J, Svalbe B, Cirule H, Liepinsh E, Grinberga S, Kalvinsh I, Dambrova M (2011) Administration of L-carnitine and mildronate improves endothelial function and decreases mortality in hypertensive Dahl rats. *Pharmacol Rep* 63: 752-762
19. Vilskersts R, Zharkova-Malkova O, Mezhapuke R, Grinberga S, Cirule H, Dambrova M (2013) Elevated vascular gamma-butyrobetaine levels attenuate the development of high glucose-induced endothelial dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 40: 518-524
20. Dambrova M, Skapare-Makarova E, Konrade I, Pugovichs O, Grinberga S, Tirzite D, Petrovska R, Kalvins I, Liepins E (2013) Meldonium decreases the diet-increased plasma levels of trimethylamine N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis. *J Clin Pharmacol* 53: 1095-1098
21. Kuka J, Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, Liepins J, Cirule H, Gustina D, Loza E, Zharkova-Malkova O, Grinberga S, Pugovichs O, Dambrova M (2014) Suppression of intestinal microbiota-dependent production of pro-atherogenic trimethylamine N-oxide by shifting L-carnitine microbial degradation. *Life Sci* 117: 84-92
22. Sjakste N, Kleschyov AL, Boucher JL, Baumann L, Dzintare M, Meirena D, Sjakste J, Sydow K, Münzel T, Kalvinsh I (2004) Endothelium- and nitric oxide-dependent vasorelaxing activities of gamma-butyrobetaine esters: possible link to the antiischemic activities of mildronate. *Eur J Pharmacol* 495: 67-73
23. Liepinsh E, Skapare E, Svalbe B, Makrecka M, Cirule H, Dambrova M (2011) Anti-diabetic effects of mildronate alone or in combination with metformin in obese Zucker rats. *Eur J Pharmacol* 658: 277-283
24. DeFronzo R, Fleming GA, Chen K, Bicsak TA (2016) Metformin-associated lactic acidosis: current perspectives on causes and risk. *Metabolism* 65: 20-29
25. Sokolovska J, Rumaks J, Karajeva N, Grinvalde D, Shapirova J, Klušā V, Kalvinsh I, Sjakste N (2011) The influence of mildronate on peripheral neuropathy and some characteristics of glucose and lipid metabolism in rat streptozotocin-induced diabetes mellitus model. *Biomed Khim* 57: 490-500
26. Aliyev H, Bilgili S, Toktay E, Nuriyeva N, Bayir Y (2024) Protective effects of oxyresveratrol in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: a stereological study. *Eurasian J Med* 1(0)
27. Dambrova M, Makrecka-Kuka M, Vilskersts R, Makarova E, Kuka J, Liepinsh E (2016) Pharmacological effects of meldonium: biochemical mechanisms and biomarkers of cardiometabolic activity. *Pharmacol Res* 113: 771-780
28. Pupure J, Fernandes MA, Santos MS, Moreno AJ, Kalvinsh I, Klusa V, Oliveira CR (2008) Mitochondria as the target for mildronate's protective effects in azidothymidine (AZT)-induced toxicity of isolated rat liver mitochondria. *Cell Biochem Funct* 26: 620-631
29. Pupure J, Isajevs S, Skapare E, Rumaks J, Svirskis S, Svirina D, Kalvinsh I, Klusa V (2010) Neuroprotective properties of mildronate, a mitochondria-targeted small molecule. *Neurosci Lett* 470: 100-105
30. Đurašević S, Stojković M, Sopta J, Pavlović S, Borković-Mitić S, Ivanović A, Jasnić N, Tosti T, Đurović S, Đorđević J, Todorović Z (2021) The effects of meldonium on the acute ischemia/reperfusion liver injury in rats. *Sci Rep* 11: 1305
31. Wang D, Liu F, Yang W, Sun Y, Wang X, Sui X, Yang J, Wang Q, Song W, Zhang M, Xiao Z, Wang T, Wang Y, Luo Y (2022) Meldonium Ameliorates Hypoxia-Induced Lung Injury and Oxidative Stress by Regulating Platelet-Type Phosphofructokinase-Mediated Glycolysis. *Front Pharmacol* 13: 863451
32. Eser MT, Kuru Bektasoglu P, Gure B (2020) The vasorelaxant and neuroprotective effects of mildronate in a rabbit subarachnoid hemorrhage model. *Turk Neurosurg* 30: 163-170
33. Zvejniece L, Svalbe B, Makrecka M, Liepinsh E, Kalvinsh I, Dambrova M (2010) Mildronate exerts acute anticonvulsant and antihypnotic effects. *Behav Pharmacol* 21: 548-555
34. Jones LL, McDonald DA, Borum PR (2010) Acylcarnitines: role in brain. *Prog Lipid Res* 49: 61-75
35. Barhwal Hota K, Hota SK, Chaurasia OP, Singh SB (2012) Acetyl-L-carnitine-mediated neuroprotection during hypoxia is attributed to ERK1/2-Nrf2-regulated mitochondrial biosynthesis. *Hippocampus* 22: 723-736
36. Dinkova-Kostova AT, Abramov AY (2015) The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. *Free Radic Biol Med* 88: 179-188
37. Sjakste N, Baumann L, Boucher JL, Dzintare M, Meirena D, Sjakste J, Lauberte L, Kalvinsh I (2004) Effects of gamma-butyrobetaine and mildronate on nitric oxide production in lipopolysaccharide-treated rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 94:46-50
38. Gureev AP, Sadovnikova IS, Shafarostova EA, Starkov AA, Popov VN (2021) Mildronate protects heart mtDNA from oxidative stress toxicity induced by exhaustive physical exercise. *Arch Biochem Biophys* 705: 108892
39. Shafarostova EA, Gureev AP, Volodina DE, Popov VN (2022) Neuroprotective effect of mildronate and L-carnitine on the cognitive parameters of aged mice and mice with LPS-induced inflammation. *Metab Brain Dis* 37: 2497-2510
40. Capizzi A, Woo J, Verduzco-Gutierrez M (2020) Traumatic brain injury: an overview of epidemiology, pathophysiology, and medical management. *Med Clin North Am* 104: 213-238
41. Demir D, Kuru Bektasoglu P, Koyuncuoglu T, Kandemir C, Akakin D, Yüksel M, Çelikoğlu E, Yeğen BÇ, Gürer B (2019) Neuroprotective effects of mildronate in a rat model of traumatic brain injury. *Injury* 50: 1586-1592
42. Rumaks J, Pupure J, Svirskis S, Isajevs S, Duburs G, Kalvinsh I, Klusa V (2012) Search for stroke-protecting agents in endothelin-1-induced ischemic stroke model in rats. *Medicina (Kaunas)* 48: 525-531
43. Eser MT, Bektasoglu PK, Gurer B, Bozkurt H, Sorar M, Ozturk OC, Arikok AT, Kertmen H (2020) The Vasorelaxant and Neuroprotective Effects of Mildronate in A Rabbit Subarachnoid Hemorrhage Model. *Turk Neurosurg* 30: 163-170
44. Cheng ML, Chang KH, Wu YR, Chen CM (2016). Metabolic disturbances in plasma as biomarkers for Huntington's disease. *J Nutr Biochem* 31: 38-44
45. Di Cristo F, Finicelli M, Digilio FA, Paladino S, Valentino A, Scialò F, D'Apolito M, Saturnino C, Galderisi U, Giordano A, Melone MAB, Peluso G (2019) Meldonium improves Huntington's disease mitochondrial dysfunction by restoring peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1alpha expression. *J Cell Physiol* 234: 9233-9246
46. Upadhayay S, Kumar P (2024) Mitochondrial targeted antioxidants as potential therapy for huntington's disease. *Pharmacol Rep* 76: 693-713
47. Fernandez-Marcos PJ, Auwerx J (2011) Regulation of PGC-1α, a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *Am J Clin Nutr* 93: 884S-890S
48. Marinova-Mutafchieva L, Sadeghian M, Broom L, Davis JB, Medhurst AD, Dexter DT (2009) Relationship between microglial activation and dopaminergic neuronal loss in the substantia nigra: a time course study in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *J Neurochem* 110: 966-975
49. Klusa VZ, Isajevs S, Svirina D, Pupure J, Beitnere U, Rumaks J, Svirskis S, Jansone B, Dzirkale Z, Muceniece R, Kalvinsh I, Vinters HV (2010) Neuroprotective properties of mildronate, a small molecule, in a rat model of Parkinson's disease. *Int J Mol Sci* 11: 4465-4487
50. Isajevs S, Isajeva D, Beitnere U, Jansone B, Kalvinsh I, Klusa V (2011) Mildronate as a regulator of protein expression in a rat model of Parkinson's disease. *Medicina (Kaunas)* 47: 552-559
51. Klusa V, Beitnere U, Pupure J, Isajevs S, Rumaks J, Svirskis S, Dzirkale Z, Kalvinsh I (2013) Mildronate and its neuroregulatory mechanisms: targeting the mitochondria, neuroinflammation, and protein expression. *Medicina (Kaunas)* 49: 301-309
52. Khan S, Barve KH, Kumar MS (2020) Recent advancements in pathogenesis, diagnostics and treatment of Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol* 18: 1106-1125

53. Beitnere U, van Groen T, Kumar A, Jansone B, Klusa V, Kadish I (2014) Mildronate improves cognition and reduces amyloid-beta pathology in transgenic Alzheimer's disease mice. *J Neurosci Res* 92: 338-346
54. Beitnere U, Dzirkale Z, Isajevs S, Rumaks J, Svirskis S, Klusa V (2014) Carnitine congener mildronate protects against stress- and haloperidol-induced impairment in memory and brain protein expression in rats. *Eur J Pharmacol* 745: 76-83
55. Feinberg LM, Allen TA, Ly D, Fortin NJ (2012) Recognition memory for social and non-social odors: differential effects of neurotoxic lesions to the hippocampus and perirhinal cortex. *Neurobiol Learn Mem* 97: 7-16
56. Jirak P, Larbig R, Shomanova Z, Fröb EJ, Dankl D, Torgersen C, Frank N, Mahringer M, Butkiene D, Haake H, Salzer HJF, Tschoellitsch T, Lichtenauer M, Egle A, Lamprecht B, Reinecke H, Hoppe UC, Pistulli R, Motloch LJ (2021) Myocardial injury in severe COVID-19 is similar to pneumonias of other origin: results from a multicentre study. *ESC Heart Fail* 8: 37-46
57. Yan X, Wang S, Ma P, Yang B, Si D, Liu G, Liu L, Ding M, Yang W, Li J, Sun H, Yang P (2021) Cardiac injury is associated with inflammation in geriatric COVID-19 patients. *J Clin Lab Anal* 35: e23654
58. Vilskersts R, Kigitovica D, Korzh S, Videja M, Vilks K, Cirule H, Skride A, Makrecka-Kuka M, Liepinsh E, Dambrova M (2021) Protective Effects of Meldonium in Experimental Models of Cardiovascular Complications with a Potential Application in COVID-19. *Int J Mol Sci* 23: 45
59. Nouws J, Brinke HT, Nijtmans LG, Houten SM (2014) ACAD9, a complex I assembly factor with a moonlighting function in fatty acid oxidation deficiencies. *Hum Mol Genet* 23: 1311-1319
60. Roshdy A, Zaher S, Fayed H, Coghlan JG (2020) COVID-19 and the heart: A systematic review of cardiac autopsies. *Front Cardiovasc Med* 7: 626975
61. Gureev AP, Shaforostova EA, Vitkalova IY, Sadovnikova IS, Kalinina YI, Cherednichenko VR, Reznikova KA, Valuyskikh VV, Popov VN (2020) Long-term mildronate treatment increased Proteobacteria level in gut microbiome, and caused behavioral deviations and transcriptome change in liver, heart and brain of healthy mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 398: 115031
62. Zhang J, Cai LJ, Yang J, Zhang QZ, Peng WX (2013) Nonlinear pharmacokinetic properties of mildronate capsules: a randomized, open-label, single- and multiple-dose study in healthy volunteers. *Fund Clin Pharmacol* 27: 120-128
63. Tretzel L, Görgens C, Geyer H, Thomas A, Dib J, Guddat S, Pop V, Schänzer W, Thevis M (2016) Analyses of Meldonium (Mildronate) from Blood, Dried Blood Spots (DBS), and Urine Suggest Drug Incorporation into Erythrocytes. *Int J Sports Med* 37: 500-502
64. Berlato DG, Bairros AVD (2020) Meldonium: pharmacological, toxicological, and analytical aspects. *Toxicol Res Appl* 4: 239784732091514
65. Bellman V (2024) Unlocking the Potential of Meldonium: From Performance Enhancement to Therapeutic Insights. *Psychoactives* 3: 235-247
66. Blum IAB, Kalvin'sh IIA, Kucherenko NE, Lukevits EIA (1988) Stimulation with quaterin of DNA replication and repair. *Voen-Med Zh* 60: 19-23
67. Blum IAB, Verbovikova EA, Kalvin'sh IIA, Bratus NI, Babeniuk YD, Kucherenko NE (1990) Influence of the trimethylhydrazine analogue of gamma-butyrobetaine – Mildronate – on the pre-mRNA biosynthesis. *Latv Zinatnu Akad Vestis* 10: 105-109
68. Degrace P, Demizieux L, Du ZY, Gresti J, Caverot L, Djaouti L, Jourdan T, Moindrot B, Guillard JC, Hocquette JF, Clouet P (2007) Regulation of lipid flux between liver and adipose tissue during transient hepatic steatosis in carnitine-depleted rats. *J Biol Chem* 282: 20816-20826
69. Bruveris Z, Antane V, Misane I, Rimeicans J, Lusis I, Auzans A, Mangale M, Mednis A, Stonans I (2013) Effects of meldonium on sexual performance, sperm motility, testes morphology and blood biochemical markers in boars. *Anim Reprod Sci* 136: 303-309
70. Chirkova A, Petrenko A, Vasilyev P (2021) Testing Meldonium: Assessing Soviet pragmatic alternatives to the randomized controlled trial. *Clin Trials* 18: 269-276
71. Temerdashev A, Azaryan A, Dmitrieva E (2020) Meldonium determination in milk and meat through UHPLC-HRMS. *Heliyon* 6: e04771
72. Estebe JP, Atchabahian A (2017) The nerve: A fragile balance between physiology and pathophysiology. *Eur J Anaesthesiol* 34: 118-126
73. Fulas OA, Laferriere A, Stein RS, Bohle DS, Coderre TJ. Topical combination of meldonium and N-acetyl cysteine relieves allodynia in rat models of CRPS-I and peripheral neuropathic pain by enhancing NO-mediated tissue oxygenation. *J Neurochem* 2020 Mar;152(5):570-584
74. A Ahmad, C Berto-Junior, P Hoyerck, N Kumari, M Jerebtsova, S Nekhai (2023) Mildronate Ameliorates Kidney Function and Reduces Inflammation in SCD Mice. *Blood*. (Supplement 1): 5274
75. Yang W, Lei X, Liu F, Sui X, Yang Y, Xiao Z, Cui Z, Sun Y, Yang J, Yang X, Lin X, Bao Z, Li W, Ma Y, Wang Y, Luo Y (2024) Meldonium, as a potential neuroprotective agent, promotes neuronal survival by protecting mitochondria in cerebral ischemia-reperfusion injury. *J Transl Med* 22: 771
76. Liu F, He H, Yang W, Wang D, Sui X, Sun Y, Wang S, Yang Y, Xiao Z, Yang J, Wang Y, Luo Y (2024) Novel energy optimizer, meldonium, rapidly restores acute hypobaric hypoxia-induced brain injury by targeting phosphoglycerate kinase 1. *Cell Commun Signal* 22: 383
77. Minelli C, Piva F, Cecati M, Armeni T, Mobbili G, Galeazzi R, Melecchi A, Cristaldi M, Corsaro R, Rusciano D (2023) Meldonium Inhibits Cell Motility and Wound-Healing in Trabecular Meshwork Cells and Scleral Fibroblasts: Possible Applications in Glaucoma. *Pharmaceuticals (Basel)* 16: 594
78. Liu F, Sui X, Wang Q, Li J, Yang W, Yang Y, Xiao Z, Sun Y, Guo X, Yang X, Yang J, Wang Y, Luo Y (2023) Insights into the pharmacodynamics and pharmacokinetics of meldonium after exposure to acute high altitude. *Front Pharmacol* 14: 1119046
79. Bjørndal B, Tungland SL, Bohov P, Sydnes MO, Dankel SN, Madsen L, Berge RK (2024) Meldonium-induced steatosis is associated with increased delta 6 desaturation and reduced elongation of n-6 polyunsaturated fatty acids. *Liver Res* 8: 152-164.
80. Đurašević S, Ružičić A, Lakić I, Tosti T, Đurović S, Glumac S, Pejić S, Todorović A, Drakulić D, Stanković S, Jasnić N, Đorđević J, Todorović Z. (2022) The Effects of a Meldonium Pre-Treatment on the Course of the LPS-Induced Sepsis in Rats. *Int J Mol Sci* 23:2395
81. Piskol F, Neubauer K, Eggers M, Bode LM, Jasper J, Slusarenko A, Reijerse E, Lubitz W, Jahn D, Moser J (2022) Two-component carnitine monooxygenase from *Escherichia coli*: functional characterization, inhibition and mutagenesis of the molecular interface. *Biosci Rep* 42: BSR20221102
82. Stoyanova S, Bogdanov MG (2025) Rational Design, Synthesis, and In Vitro Activity of Heterocyclic Gamma-Butyrobetaines as Potential Carnitine Acetyltransferase Inhibitors. *Molecules* 30: 735
83. Koh JT, Zheng J (2007) The new biomimetic chemistry: artificial transcription factors. *ACS Chem Biol* 2: 599-601
84. Jędrejko K, Catlin O, Stewart T, Muszyńska B (2024) Mexidol, Cytoflavin, and succinic acid derivatives as antihypoxic, anti-ischemic metabolic modulators, and ergogenic aids in athletes and consideration of their potential as performance enhancing drugs. *Drug Test Anal* 16: 1436-1467

Meldonium: current and emerging therapeutic applications

Halszka Ponamarczuk, Marcin Popielarski✉

Department of Cytobiology and Proteomics, Medical University of Lodz

✉corresponding author: marcin.popielarski@umed.lodz.pl

Keywords: meldonium, L-carnitine, fatty acids, hypoxia, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases

ABSTRACT

Meldonium functions as an inhibitor of γ -butyrobetaine hydroxylase, the enzyme responsible for catalyzing the biosynthesis of L-carnitine. By inhibiting mitochondrial β -oxidation of fatty acids under hypoxic conditions, meldonium exerts cytoprotective effects on cardiac, hepatic, and pulmonary tissues. Meldonium attenuates the deleterious effects of myocardial infarction, arrhythmias, and diabetes. It is recognized as a promising therapeutic agent for neurodegenerative disorders, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and Huntington's disease, as well as painful neuropathies. Its neuroprotective properties are attributed to its ability to mitigate age-related alterations in the central nervous system by reducing oxidative stress and inflammation. Moreover, it inhibits neuronal apoptosis and facilitates cognitive functions, particularly learning and memory processes. Meldonium has been designated as a prohibited doping agent by the World Anti-Doping Agency (WADA), and its use is strictly banned in professional sports. Recent scientific investigations indicate that meldonium may exhibit additional therapeutic potential beyond its currently recognized clinical applications.

