

## **Сукцинат аммония - “альтернатива” антиоксидантам?**

Е.И.Маевский, М.Л.Учитель, Е.В.Гришина

Учреждение Российской Академии наук Институт теоретической и экспериментальной  
биофизики, Пущино, 142290, Россия,

[eim11@mail.ru](mailto:eim11@mail.ru)

+7(4967)732648

### **Резюме**

Представлена гипотеза о наличии метаболической альтернативы избыточному использованию антиоксидантов, чрезмерно используемых в качестве средств замедления старения и уменьшения патологических сдвигов при различных видах повреждений. Анализ выполнен с позиций оценки состояния энергетического обмена при здоровом образе жизни, основанном на отсутствии переедания и поддержании физической активности, способствующих уменьшению образования свободных радикалов в митохондриях. Поскольку гиперпродукция свободных радикалов на уровне митохондрий обусловлена одноэлектронными утечками восстановительных эквивалентов на кислород в первую очередь при избыточном восстановлении наиболее удаленного от кислорода участка дыхательной цепи, постольку использование естественного метаболита сукцината аммония, предотвращающего гиперэнергизацию митохондрий и гипервосстановление NAD(P)H, может играть положительную антиоксидантную роль. Экзогенный сукцинат аммония предотвращает как гиперэнергизацию, так и избыточное восстановление NAD(P)H в митохондриях и позволяет уменьшить благодаря этому образование свободно-радикальных форм кислорода (АФК), либо в короткий срок вывести митохондрии из зоны риска образования АФК. На уровне целостного организма прием сукцината аммония в значительной степени может уменьшать потребность в экзогенных антиоксидантах и обладает способностью активировать процессы восстановления после нагрузки. Сам препарат полностью подвергается метаболическим превращениям.

### **Ключевые слова**

Антиоксиданты, энергетический обмен, генерация митохондриями свободных радикалов, сукцинат аммония.

## AMMONIUM SUCCINATE AS AN ALTERNATIVE TO ANTIOXIDANTS?

E.I. Maevsky, M.L.Uchitel, E.V. Grishina

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAN, Pushchino, 142290, Russian Federation, [eim11@mail.ru](mailto:eim11@mail.ru)

### Summary

A “Metabolic” alternative to excessive use of antioxidants, which are overused to slow down the aging process as well as to mitigate injury-related, pathological aberrations, has been hypothesized. Analysis was performed based on the evaluation of healthy energy metabolism, when free radical formation in mitochondria is decreased by avoiding overeating and regularly performing physical activity. While hyper production of free radicals at the mitochondrial level is determined by single-electron leak of reducing equivalents to oxygen mainly through excessive reduction of the outer most oxygen part of the respiratory chain, the use of natural metabolite, ammonium succinate, which acts by precluding mitochondrial hyper energization as well as NAD(P)H hyper reduction, might promote a favorable antioxidant effect. Exogenous ammonium succinate prevents hyper energization of mitochondria as well as an excessive reduction of NAD(P)H, thereby either decreasing the formation of reactive oxygen species (ROS) or quickly pulling mitochondria out of the ROS-formation risk zone. At the whole body level ammonium succinate administration may significantly reduce the need of exogenous antioxidants and may also activate a post-stress restoration mechanism. The composition itself is converted completely through metabolic pathways.

**Key words:** antioxidants, energy metabolism, mitochondria, reactive oxygen species, ammonium succinate.

В настоящее время во всем мире наблюдается чрезмерное рекламирование и увлечение приемом антиоксидантов. Их добавляют в растительные масла, жиры, напитки, молочные продукты. Добавленные и естественные антиоксиданты присутствуют практически во всем спектре пищи. Любой витаминный или минерально-витаминный комплекс также содержит их в значительных количествах. И если в Европе для большинства из них установлен верхний порог, выше которого нельзя добавлять антиоксиданты в продукты, витамины или лекарства, то в США такой контроль фактически отсутствует. Пользуясь «научной» модой и стараясь получить рыночные

преимущества, многие производители добавляют в свою продукцию антиоксиданты в огромных количествах, в десятки и сотни раз превышающих суточную потребность человека. По обе стороны океана наблюдается существенное и опасное превышение всех разумных норм их приема. Практически в каждом из потребляемых в течение дня продуктов содержится «доза», почти равная суточной потребности в антиоксидантах. В результате суммарное дневное потребление в несколько раз превосходит необходимое для организма количество антиоксидантов.

Вопреки антиоксидантной моде и прооксидантной теории старения [Арутюнян, Козина, 2009], впервые выдвинутой в 1956г Д. Хардманом, выполнено множество исследований, свидетельствующих о том, что постоянный прием и передозировка антиоксидантов не менее опасны, чем их дефицит. Еще в 1977 году Н.Гольдштейн писал о том, что в рамках этих представлений принято было считать необходимым для сохранения целостности клетки «полное улавливание радикала  $O_2^{\cdot-}$ ». Но уже в 1998 -2000 годы он написал: «после трех десятилетий интенсивных исследований один из авторов концепции токсичности кислорода МакКорд признал, что «супероксид вызывает не только плохие изменения». Сегодня на первый план выходит другая рабочая гипотеза, согласно которой «в здоровой клетке существует оптимальное соотношение между продукцией супероксида и его улавливанием». Если это действительно так, то образование радикала  $O_2^{\cdot-}$  в процессах метаболизма следует рассматривать не только как нежелательное явление, но и как отражение эволюционно сложившейся потребности организма».

Дело в том, что образование активных форм кислорода и азота – это нормальный абсолютно необходимый для клеток процесс, обеспечивающий внутриклеточную, межклеточную и межорганную сигнализацию, и контроль важнейших физиологических функций и защитных систем организма. Достаточно упомянуть хотя бы основные функции, запускаемые и регулируемые свободными радикалами в клетке, как это схематически показано на рис. 1. Естественно, что при такой важности свободных радикалов кислорода и азота брать в расчет только их повреждающее действие, по меньшей мере, опрометчиво и опасно. Естественно, что при такой важности свободных радикалов кислорода и азота брать в расчет только их повреждающее действие, по меньшей мере, опрометчиво и опасно. В 1934 году А.Л. Чижевский, Л.Л. Васильев и А.Л. Войнар выдвинули электрохимическую теорию омоложения и профилактики старения. В последние годы благодаря исследованиям школы профессора М.Н. Кондрашовой показано, что отрицательные аэроионы являются инициаторами образования свободных

радикалов в водных пространствах организма в малых концентрациях, необходимых для функционирования организма в физиологических условиях.

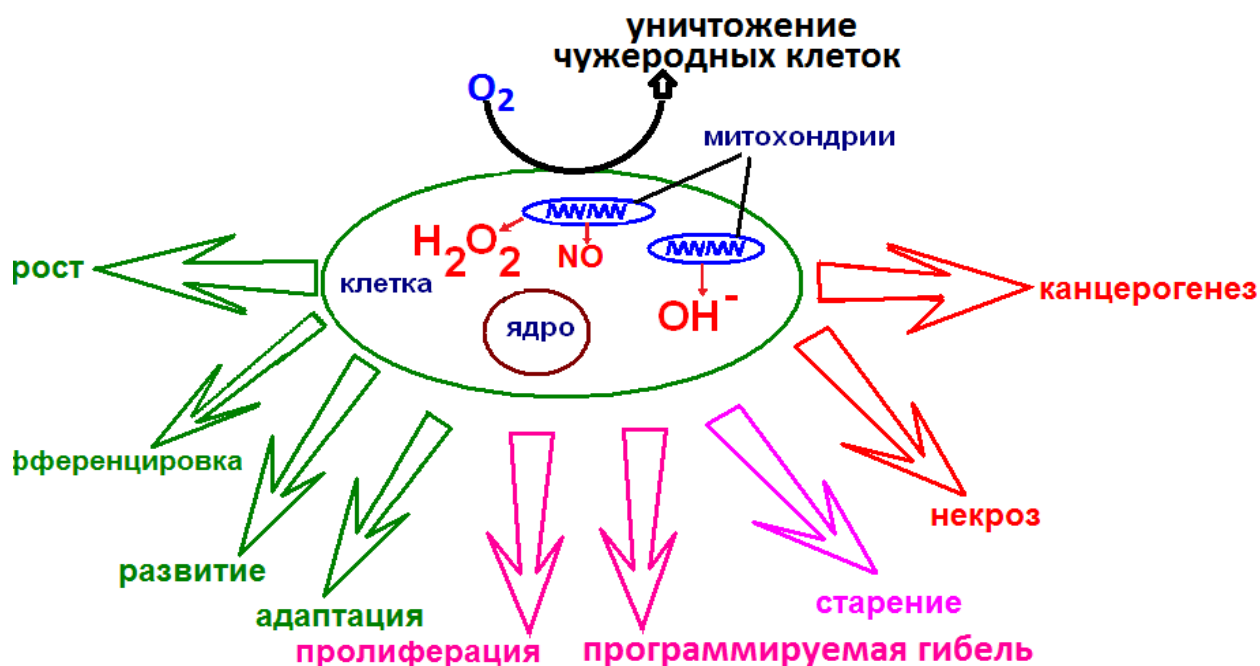


Рис.1. Схема-перечень участия свободных радикалов кислорода и азота в регуляции ряда клеточных функций. Черная стрелка – особые функции лейкоцитов и макрофагов по удалению микроорганизмов и поврежденных клеток путем генерации свободных радикалов при участии NADPH-оксидазы наружной клеточной мембраны.

С другой стороны профессор В.Н. Анисимов выявил, что воздействие неумеренного и длительного введения в организм практически любого из более чем 200 видов антиоксидантов чревато стимуляцией канцерогенеза

Весьма интересные данные продемонстрировала Т.Г. Сазонтова о том, что нанесение антиоксидантов на неповрежденную кожу уменьшает ее сопротивляемость и увеличивает повреждающее действие последующего ожога. И, напротив, те же антиоксиданты, используемые на фоне ожогового повреждения, обеспечивают значительное ускорение заживления.

Уже из этих двух примеров ясно, что несвоевременный и чрезмерный прием или контакт с антиоксидантами в тех ситуациях, когда работают собственные антиоксидантные системы, весьма небезопасны. Нельзя не заметить, что сразу же возникают контраргументы в отношении необходимости дополнительного поступления антиоксидантов, например, при экстремальных нагрузках, гипоксии, ишемии и, особенно в постишемический периоды реоксигенации и реперфузии, когда энергетические станции клетки – митохондрии (MX) превращаются буквально в фабрики свободных радикалов кислорода и азота. В связи с этим нельзя не заметить, что гипоксия и ишемия, как и выход

из них – это не только огромный круг патологических процессов, но и не менее широкая область функциональных состояний, вполне физиологических, в рамках нормы, в том числе, и неизбежный атрибут старения. В таких ситуациях, как правило, есть смысл в использовании антиоксидантов. Но альтернатива использования экзогенных антиоксидантов возможна и здесь.

Суть альтернативы заключается в том, чтобы так повлиять на процессы утилизации кислорода и энергетический обмен МХ, чтобы они не выполняли при этом функции гиперпродуцентов свободных радикалов. На протяжении веков эмпирически была показана эффективность ограничения избыточно калорийного питания и усиленного употребления животных жиров и белков также, как и постоянного поддерживаемой физической активностью. Эмпирические, направленные на уменьшение образования прооксидантов подходы к увеличению продолжительности жизни нашли полное подтверждение в современных научных исследованиях [А. Голубев, 2007]. Внимание патофизиологов к роли превращений субстратов энергетического обмена в процессе старения, развитии атеросклероза, ожирения, сахарного диабета второго типа и канцерогенеза привлек В.Н. Дильман еще в работах 1968 года и в ряде последующих исследований. В настоящее время благодаря исследованиям научной школы академика РАН В.П. Скулачева стало ясно, что гиперэргические – энергизованные МХ (поддерживающие высокий трансмембранный электрохимический потенциал) даже в условиях нормоксии являются источником повышенного образования активных форм кислорода (АФК). Множество исследователей доказало, что небольшая дезэнергизация МХ, например, за счет повышения калиевой проводимости или мягкого разобщения окислительного фосфорилирования [В.П. Скулачев, 1998], достаточна для того, чтобы уменьшить генерацию свободных радикалов не только в условиях нормоксии, но и при гипоксии и реперфузии. На этом построено в значительной мере и такое адаптивное воздействие, как гипоксическое preconditioning, предваряющий ишемию короткий гипоксический или ишемический сеанс уменьшает последующее повреждающее действие реоксигенации. Эти же механизмы лежат в основе положительного воздействия как при ограничении калорийности питания, так и при активных умеренных физических нагрузках. И, напротив, отсюда же следуют и драматические последствия избыточного питания и гиподинамии, отягощенной стрессом, когда зачастую мобилизация энергетических ресурсов не завершается реальным их расходом в процессах энергообеспечения нагрузки.

Однако, как свидетельствует опыт современной жизни, естественные меры систематического управления реакциями МХ и энергетическим обменом в целом за счет изменения характера и ритма жизни, поддержания необходимого уровня физической активности или рационализации питания, как правило, «недоступны» современному человеку либо в связи с недостаточной мотивацией, либо вследствие отсутствия достаточной волевой установки. Соответственно возникает вопрос, а есть ли вообще иная возможность достаточно быстро и эффективно изменить ситуацию в благоприятную сторону, не злоупотребляя антиоксидантами. Как только что было отмечено, вековой опыт человечества позволяет надеяться на эффективность именно субстратного – метаболического подхода, то есть ограничения калорийности питания и увеличение расхода субстратов за счет физических нагрузок. Попробуем в связи с этим рассмотреть одно из ключевых звеньев этой проблемы с позиций метаболической регуляции состояния МХ, поскольку пока ничего более эффективного и физиологически приемлемого на уровне целостного организма, по-видимому, не существует. Такое рассмотрение потребует анализа некоторых аспектов окисления субстратов энергетического обмена, значения степени энергизации МХ и ее влияния на уровень восстановленности наиболее удаленного от кислорода участка дыхательной цепи МХ, то есть на степень восстановленности NADH и так называемого 3-го комплекса дыхательной цепи, которые ответственны за генерацию свободных радикалов при одноэлектронных утечках электронов на кислород [M.P. Murphy, 2009].

Известно, что в отличие от большинства окисляющихся в МХ субстратов, поставляющих свои восстановительные эквиваленты на NAD, янтарная кислота (сукцинат) поставляет свои восстановительные эквиваленты на флавопротеиды, то есть через посредство существенно более близкого к кислороду и более быстрого пути. Термодинамическая эффективность использования кислорода (КПД) выше при окислении NADH, так как при потреблении одного атома кислорода обеспечивает синтез трех молекул АТФ, и коэффициент АТФ/О равен 3. Тогда как укороченный путь электронов при окислении сукцината дает величину АТФ/О всего лишь 2. Но окисление сукцината идет с большей скоростью и благодаря чему мощность процесса ресинтеза АТФ выше, чем при окислении NAD-зависимых субстратов. Энергетическая мощность окисления сукцината столь велика, что прирост электрохимического трансмембранного потенциала обеспечивает энергозависимый обратный перенос электронов (открытый еще в 1955 г. В Chance). В свою очередь, как стало известно в настоящее время, именно гипервосстановление NAD(P)H при высокой энергизации МХ способствует

одноэлектронным утечкам на кислород и образованию АФК [В.П.Скулачев,1998]. В свою очередь гиперпродукция АФК инициирует повреждение ДНК, белков и мембран МХ и ядерного аппарата клетки. Очевидно, прирост степени восстановленности NADH при дефиците кислорода является одной из причин повышенного образования АФК во время гипоксии и, особенно, в период реоксигенации – возобновления доставки кислорода.

Благодаря своим кинетическим и топологическим преимуществам окисление сукцината при нормоксии и даже гипероксии (при инкубации *in vitro* изолированных МХ исходная величина парциального давления кислорода в среднем в 10-100 раз выше, чем в тканях организма) буквально «монополизирует» по мнению В.Chance (1962) и М.Н.Кондрашовой (1969) дыхательную цепь. Мы проверили это представление путем одновременной регистрации потребления  $O_2$  и выделения  $CO_2$  на уровне изолированных МХ, воспользовавшись тем, что окисление таких NAD-зависимых субстратов, как пируват, изоцитрат и  $\alpha$ -кетоглутарат сопровождается декарбоксилированием (выделением  $CO_2$ ), а при окислении сукцината  $CO_2$  не освобождается. Соответственно, при окислении сукцината отношение  $CO_2/O$  падает до 0 с 2 (когда окисляются декарбоксилирующиеся NAD-зависимые субстраты). Ясно, что такой низкой величине дыхательного коэффициента -  $CO_2/O$  дыхательная цепь монополизирована сукцинатом. Даже при отношении пируват/сукцинат = 5/1 величина отношения  $CO_2/O$  не превышает 0.5, хотя оба субстрата добавлены в концентрациях, превышающих константы сродства соответствующих дегидрогеназ в несколько раз [Е.И. Маевский и др. 2001].

При гипоксии система окисления сукцината находится в еще более выгодном положении, поскольку отдаленный от кислорода NADH максимально восстановлен, что тормозит окисление всех субстратов цикла Кребса, кроме сукцината, поставляющего восстановительные эквиваленты через флавины. Последние, в отличие от NADH, сохраняют существенно большую окисленность при гипоксии [R. Scholz et al.,1969; М.Н. Кондрашова, 1973; Л.Д. Лукьянова, 1982]. Таким образом, при гипоксии сукцинат становится воистину монополистом дыхательной цепи. Более того, в случае отсутствия энергетической нагрузки приросту NADH способствует активация сукцинатдегидрогеназы. Оказалось, что при снижении  $pO_2$  до 20% возрастает скорость поступления сукцината в МХ и повышается сродство фермента к сукцинату. И природа использует эту ситуацию: множество исследований показало, что в полуанаэробных условиях происходит восстановительное обращение цикла Кребса от щавелевоуксусной кислоты до сукцината. В свою очередь это восстановительное обращение обеспечивает окисление NADH до  $NAD^+$ , что поддерживает окисление пирувата, изоцитрата и  $\alpha$ -

кетоглутарата до сукцината. В результате, цикл трикарбоновых кислот при гипоксии и аноксии подобен воронке, из которой выходит сукцинат. Причем, как указывалось, в условиях гипоксии он является единственным субстратом цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), окисление которого ускоряется. В аноксических условиях (при полном отсутствии поступления кислорода) сукцинат накапливается подобно тому, как в анаэробных условиях накапливается в результате активации гликолиза молочная кислота. Избыток сукцината может выходить из МХ в цитозоль, а затем из клеток в кровь. Этот процесс зарегистрирован у ныряльщиков, глубоководных рыб и рептилий и описан еще Хочачкой и Соммеро в книге «Стратегия биохимической адаптации» в 1977 г. Иными словами, гипоксическое и анаэробное усиление образования сукцината является естественной адаптивной реакцией. Важно, чтобы были NAD-зависимые субстраты для анаэробного образования сукцината и тогда, несмотря на дефицит или отсутствие кислорода, МХ продолжают функционировать. Благодаря этому МХ сохраняются, вопреки отсутствию возможности поступления восстановительных эквивалентов на кислород. Появление сукцината в кровотоке является для всех систем организма естественным сигналом о том, что в каком-то участке тканей есть жестокий дефицит кислорода. И этот сигнал запускает каскад адаптивных реакций как в районе собственно ишемического очага, так и на уровне нейроэндокринной системы целостного организма.

Естественно, использование малых количеств экзогенного сукцината позволяет моделировать этот сигнал и способствовать мобилизации ряда адаптивных систем заранее, до того, как развивается тяжелое кислородное голодание. Такая профилактика – обычная реакция нейроэндокринной системы в природе. Но в данном случае поведенческие реакции – прием сукцината играют упреждающую роль, профилактическую и лечебную (при недостаточности кислорода в условиях уже произошедшего ишемического повреждения). Говоря о малых количествах вводимого извне сукцината, мы имеем в виду то, что даже в условиях ненапряженного – обычного основного обмена – в сутки в организме человека образуется и сгорает в МХ в среднем от 400 до 500 г сукцината, тогда как для запуска каскада адаптивных реакций достаточно поступления в тысячи раз меньших количеств сукцината, порядка 50-100 мг.

Изучение влияния поступления в организм животных и человека малых, не столько субстратных, сколько «сигнальных» доз сукцината позволило легко зарегистрировать «адаптивный» эффект сукцината, в частности, при экстремальных нагрузках и перегрузках любого характера, при утомлении, но оказалось не столь эффективным, как это можно было ожидать. Выяснилось, что очень важен катион, с которым экзогенный

сукцината проникает через биологические мембраны. Опыт показал, что эффективнее других оказалась аммониевая соль сукцината: и при гипоксии, и при старении, и в качестве радиопротектора, и средства, нормализующего вегетативный статус организма, и в период перед нагрузкой, и особенно, в восстановительный период после интенсивных экстремальных нагрузок. Это связано не только со способностью аммониевой соли сукцината на порядок быстрее, чем другие соли сукцината, проходить через мембранные барьера, но и с тем, что именно аммониевая соль более полно имитирует - моделирует гипознергетическую гипоксическую ситуацию. Известно, что любая дезэнергизации неизбежно сопровождается гиперпродукцией аммиака (и, следовательно, иона аммония) в результате усиленного распада АТФ и других адениловых нуклеотидов [Ньюсхолм и Старк, 1977]. Очевидно, что сукцинат аммония воспроизводит эту ситуацию. Наши исследования не только на уровне МХ, но также на тканевых препаратах и в условиях целостного организма показали, что сукцинат аммония удивительное соединение. Например, существенно по-разному изменяется степень восстановленности NAD(P)H в изолированных МХ печени крысы при окислении сукцината калия и сукцината аммония

(рис.2.).

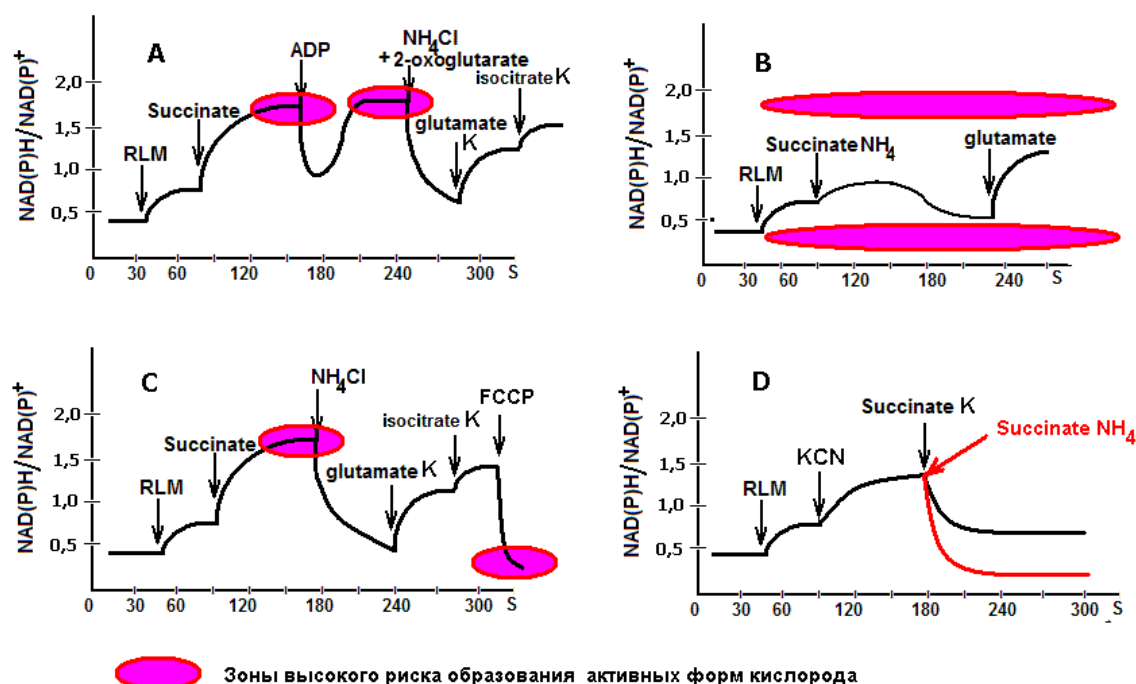


Рис. 2 Влияние сукцината на степень восстановленности NAD(P)H в изолированных МХ. (RLM –rat liver mitochondria). **А** - Последовательное восстановление NAD(P)H при добавлении МХ (за счет эндогенных субстратов) и сукцината калия, восстанавливающего NAD(P)H путем энергозависимого обратного потока восстановительных эквивалентов по дыхательной цепи; затем цикл окисления-восстановления при фосфорилировании добавленного ADP вследствие торможения обратного переноса и прямого потока восстановительных эквивалентов на кислород; последующее внесение в среду α-кетоглутарата и аммония запускает окисление NAD(P)H путем восстановительного аминирования, это окисление может быть частично обращено при окислении экзогенных NAD(P)H-зависимых субстратов глутамата и изоцитрата. **В** - сукцинат аммония вызывает двухфазную реакцию: меньшее восстановление NAD(P)H, сменяющееся его окислением, так как ион аммония запускает окисление NAD(P)H путем восстановительного аминирования до глутамата с участием эндогенного α-кетоглутарата; на этом фоне экзогенный глутамат тормозит восстановительное аминирование и способствует восстановлению NAD(P)H. **С** – начальное восстановление NAD(P)H, как в случае А и запуск восстановительного аминирования аммонием за счет эндогенного α-кетоглутарата; глутамат и изоцитрат восстанавливают NAD(P)H, в присутствии разобщителя окислительного фосфорилирования FCCP окисляется NAD(P)H как за чет стимуляции прямого потока, так и за счет торможения энергозависимого обращения восстановительных эквивалентов. **Д** – восстановление NAD(P)H при остановке

дыхательной цепи цианидом; сукцинат окисляет NAD(P)H, запуская восстановительное аминирование за счет эндогенных  $\alpha$ -кетоглутарата и аммония; аммоний в составе сукцината аммония вызывает еще большее окислению NAD(P)H. Кинетику редокс превращений NAD(P)H регистрировали флуориметрически (ФАН 2 УБХ, Россия). Среда инкубации: 250 мМ сахарозы, 10 мМ KCl, 3 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 10 мМ Трис-Cl буфера (pH 7,3), концентрация МХ 3 мг белка в мл). Добавки субстратов по 5 мМ, ADP - 200 мкМ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1,5 мМ, KCN – 3 мМ, FCCP -  $10^{-7}$ М.

В обоих случаях на фоне эндогенных субстратов соли сукцината, благодаря стимуляции обратного переноса восстановительных эквивалентов, способствуют восстановлению NAD(P)H (рис.2, А,В,С). При остановке дыхательной цепи (рис.2 D) даже калиевая соль сукцината способствует окислению NADH вследствие сдвига соотношения между окислением эндогенного  $\alpha$ -кетоглутарата и его восстановительным аминированием за счет наличия эндогенного аммония.



Рис. 3 Пути превращения  $\alpha$ -кетоглутарата под воздействием экзогенных субстратов. Добавленный сукцинат тормозит окисление  $\alpha$ -кетоглутарата соответствующей дегидрогеназой до сукцината и в присутствии аммония способствует образованию глутамата в глутаматдегидрогеназной реакции путем восстановительного аминирования. Изменения уровня субстратов регистрировали методом Н-ЯМР-спектроскопии с помощью ЯМР спектрометра фирмы Bruker в суспензии изолированных МХ печени крысы (подобные результаты получены также на изолированных МХ коркового слоя почек, головного мозга и сердца). Инкубационная среда в экспериментах, суммированных в данной схеме такая же, как на рис.2, но концентрация МХ 15 мг в мл.[22].

Экзогенный (добавленный) сукцинат «разворачивает»  $\alpha$ -кетоглутарат в сторону образования глутамата (рис. 3), что приводит к окислению NADH и NADPH, легко регистрируемому по изменению уровня флуоресценции NAD(P)H. Таким образом, при закрытой дыхательной цепи (моделирование условия аноксии) появление экзогенного сукцината способствует не только окислению избытка NADH, но и удалению избытка аммония, неизбежно накапливающегося при кислород-дефицитной деэнергизации. Внесение сукцината аммония вызывает существенно большее окисление NADH (рис.2 D). В условиях оксигенации сукцинат аммония никогда не вызывает такого резкого восстановления NADH, как другие соли сукцината, так как достаточно мощно запускает образование глутамата с потреблением NADH. Естественно, при этом обратный перенос

электронов не может обеспечить высокий уровень восстановленности NADH (рис. 2 В). Наблюдается «физиологический» баланс между окисленным и восстановленным NAD. Происходит явление, моделирующее мягкую дезэнергизацию, к которой так чувствителен процесс образования АФК. Miwa и Brand (2003) показали экспериментально, что дезэнергизация, вызывающая снижение восстановленности NADH всего на 10 мВ (при исходном среднем уровне 185-200 мВ) уменьшает генерации АФК в МХ на 70%. Итак, даже при вполне достаточном кислородном обеспечении сукцинат аммония гораздо мягче изменяет степень восстановленности дыхательных переносчиков, тем самым исключает попадание МХ в зону риска генерации активных форм кислорода, которые инициируют перекисное окисления липидов (ПОЛ) мембран и повреждение многих биологически важных молекул.

Кроме того, процесс окисления сукцината резко замедляет индуцированное ПОЛ в суспензии поврежденных митохондрий (рис. 4).

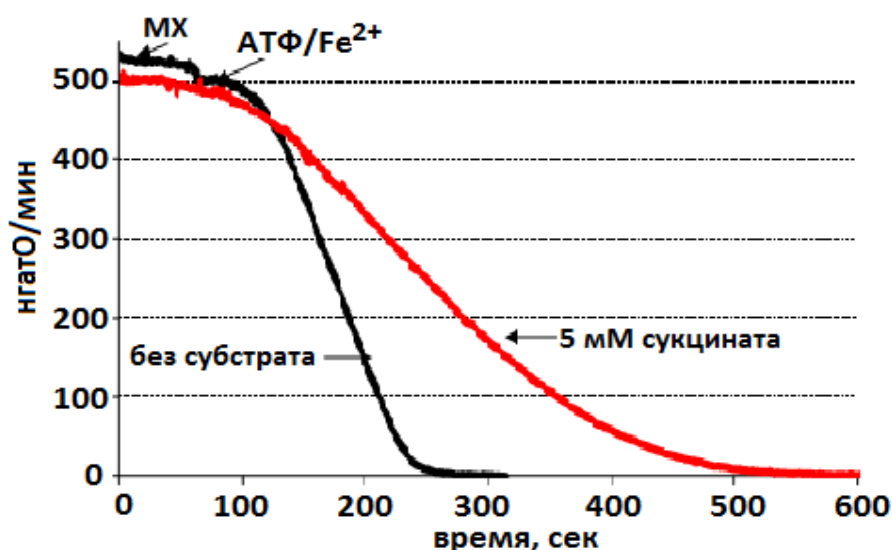


Рис. 4. Пример экспериментальных кривых торможения окисляющимся сукцинатом потребления кислорода при индуцированном комплексом АТФ-Fe<sup>2+</sup> перекисном окислении липидов в МХ печени крысы, поврежденных однократным замораживанием-оттаиванием. Полярографическая регистрация потребления кислорода кларковским мембранным электродом. Инкубационная среда 150 мМ KCl, 10 мМ Трис-Cl буфера (pH 7,3) Добавки: 1,5 мМ АТФ, 100 мкМ Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Концентрация МХ - 1 мг белка в мл.

Причем не окисляющийся сукцинат (сукцинат сам по себе, как молекула дикарбоновой кислоты), как показали наши исследования на суспензии фосфолипидов, легко подвергающихся ПОЛ, не влияет на развитие индуцированного ПОЛ.

Важным следствием превращений сукцината аммония является также стимуляция образования глутамата – известного нейротрансмиттера. Причем глутамат, сам являясь активатором множества синапсов, далее декарбоксилируется до гамма-аминомасляной

кислоты – медиатора торможения, и затем переаминируется в гамма-оксипируват – природное снотворное. Поэтому поступление в организм сукцината аммония может оказывать двоякий эффект. В большинстве случаев (примерно в 70%) проявляется активирующее действие в виде повышения бодрости и работоспособности. Но до 30% людей реагируют на сукцинат аммония, как на успокаивающее средство, снимающее стрессовое напряжение, иногда вплоть до легкой заторможенности и даже засыпания. По-видимому, второй эффект был открыт первым, и поэтому в Немецкой и Российской фармакопее XIX века сукцинат аммония экспонирован как успокаивающее и легкое противосудорожное средство. Клинические испытания позволили нам установить [Песков и др., 2005], что прием сукцината аммония способствует ликвидации избыточной тревожности, успокаивает, поднимает активность и уменьшает метеочувствительность, особенно у ваготоников. Но самое интересное, что независимо от того, каким был первоначальный эффект сукцината аммония, он в обеих ситуациях способствует ускорению восстановления после интенсивной нагрузки. При этом, как было показано методом масс-спектрометрии выдыхаемого воздуха, принятый внутрь обогащенный изотопом  $^{13}\text{C}$  в положении 2 и 3 сукцинат аммония, полностью подвергается окислительным превращениям до углекислого газа в 6-8 раз быстрее, чем глюкоза [Маевский и др. 2001].

Многолетние наблюдения за пациентами при приеме сукцината аммония в различных экстремальных ситуациях и при патологических состояниях, а также в ходе клинических исследований, не выявили прямых противопоказаний к его применению. Исключение, показанное экспериментально, составляют лишь острый инсульт и период в первые 4-7 суток последующие за инсультом.

В данной статье мы не касаемся рецепторных и генетически-обусловленных эффектов сукцината. Поскольку это уже иной, не менее интересный, но более сложный процесс, свидетельствующий о том, что полезные эффекты от приема самых великолепных природных парафармацевтиков, к которым явно относится сукцинат аммония, требуют специального назначения.

В заключение можно резюмировать, что экзогенный сукцинат аммония особым образом влияет на протекание энергетических и обменных процессов: его введение позволяет либо предотвратить образование свободно-радикальных форм кислорода, либо в короткий срок вывести митохондрии из зоны риска образования АФК. Прием сукцината аммония может в значительной степени уменьшать потребность клеток и организма в целом в поступлении экзогенных антиоксидантов, способствует активации процессов

восстановления после нагрузки. Сам препарат полностью подвергается метаболическим превращениям.

#### Литература.

1. Арутюнян А.В. Козина Л.С. (2009) Механизмы свободнорадикального окисления и его роль в старении. //Успехи геронтологии. Т.22, № 1, с.104-116.
2. Гольдштейн Н.И. (2000) Биофизические аспекты физиологического действия экзогенного  $O_2^{\cdot-}$  на животных: Дисс. докт. биол. наук, М. изд-во МГУ.
3. Goldstein N., Arshavskaya T. (1997) Is atmospheric superoxide vitally necessary? Accelerated death of animals in a quasi-neutral electric atmosphere. // Z Naturforsch [C] 52, p. 396-404.
4. Гольдштейн Н.И. (1988) Аэроионы: возможная роль активных форм кислорода в механизмах биологического действия. //в кн. Кислородные радикалы в химии биологии и медицине. (под ред. Гольдштейна Н.И.), РМИ, Рига, с. 80-108.
5. Чижевский А.Л. (1922) Доклад, прочитанный в Зоологическом музее Московского государственного университета 17 марта 1922 года. Литогр. в 1й типографии калужского губисполкома. На правах рукописи. Калуга, с. 1–22.
6. Васильев Л.Л., Чижевский А.Л. (1934) Проблема органического электрообмена // Проблемы ионификации. Труды ЦНИЛИ. Т. III. Воронеж: Коммуна, 1 с. 335-368.
7. Чижевский А.Л., Л.Л. Васильев и А.Л. Войнар (1934) выдвинули электрохимическую теорию омоложения и профилактики старения [цитируются по книге: Скипетров В.П. Аэроионы и жизнь.— Изд. 3-е, перераб. и доп. - Саранск: Тип. "Крас. Окт.", 2005. 136 с.].
8. Кондрашова М.Н. (1999) Отрицательные аэроионы и активные формы кислорода. Биохимия. М. Т. 64. Вып. 3, с. 430-437.
9. Анисимов В.Н. (2003) Молекулярные и физиологические механизмы старения. Санкт-Петербург. Наука. 468 с.
10. Сазонтова Т.Г., Архипенков Ю.В. (2007) Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма.//Патофизиол. и экс. тер. №3, с. 2-18.
11. Голубев А.Г., (2003) Биохимия продления жизни.//Успехи геронтологии. Т.12. с. 57-76.
12. Скулачев В.П. (1998) О биохимических механизмах эволюция и роли кислорода.// Биохимия. Т. 63. Вып. 11. с. 1570-1579.
13. Chance B., Williams G.H. (1956 ) The respiratory chain and oxidative phosphorylation.// Advan. enzymol. related subjects biochem. V.17/p.65
14. Chance B., Hollunger G. (1961) The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria. 1. General properties and nature of the products of succinate-linked reduction of pyridine nucleotide. // J.Biol.Chem. v.236, No. 5, p. 1534-1543.
15. Кондрашовой М.Н. (1968) Биохимический цикл возбуждения. //В кн. Митохондрии. Ферментативные процессы и их регуляция. М. Наука, с. 121-131.
16. Scholz R., Thutman R.G., Williamson J.R., Chance D. (1969) Flavin and pyridine nucleotide oxidation- reduction changes in perfused rat liver. I. Anoxia and subcellular localization of fluorescent flavoproteins.//J. Biol. Chem. V.244, No. 9, p. 2317-2324.
17. Кондрашова М.Н., Маевский Е.И., Бабаян Г.В. и др. (1973) Адаптация к гипоксии посредством переключения метаболизма на превращения янтарной кислоты. // в сб. Митохондрии. Биохимия и ультраструктура. М. Наука, с 112-129.
18. Л.Д.Лукиянова Л.Д., Балмуханов Б.С., Уголев А.Т. (1982) Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. М.Наука. 301 с.

19. Хочачка П., Сомеро Дж. (1977) Стратегия биохимической адаптации. Пер. с англ. М. Мир, 399 с.
20. Ньюсхолм Э., Старт К. (1977) Регуляция метаболизма. Пер. с англ. Мир, М. 407 с.
21. Murphy M.P. (2009) How mitochondria produce reactive oxygen species. // *Biochemical J.* v. 417, (Pt.1), p. 1-13.
22. Маевский Е.И., Розенфельд А.С., Гришина Е.В., Кондрашова М.Н. (2001) Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий. Пушино, ИТЭБ РАН, 155 с.
23. Miwa S. and Brand M.D. (2003) Mitochondrial matrix reactive oxygen species production is very sensitive to mild uncoupling.//*Biochem Soc. Transact.*, V. 31, part 6, p. 1300-1301.
24. Песков А.Б., Маевский Е.И., Учитель М.Л. (2005) Оценка эффективности «малых воздействий» в клинике внутренних болезней. Ульяновск. Ульяновский гос. университет. 197 с.