

## НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ БИОЭНЕРГЕТИКИ И ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДХОДОВ К ИХ ФАРМАКОТЕРАПИИ

Кашуро В.А., Долго-Сабуров В.Б., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю., Лапина Н.В.

*Федеральное государственное учреждение науки «Институт токсикологии»*

*Федерального медико-биологического агентства,*

*г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1, тел. 3650680, e-mail*

**Резюме.** Рассмотрены молекулярные механизмы нарушения энергообеспечения при гипоксии. Развивающийся при биоэнергетической гипоксии дефицит окисленной формы НАД и повышение отношения НАДН/НАД приводит к нарушению гликолиза, цикла трикарбоновых кислот, обмена липидов, аминокислот, активации свободно-радикальных процессов и апоптоза. Сформулированы основные направления фармакотерапии, поддерживающей энергетический обмен при гипоксии.

**Ключевые слова:** Гипоксия, энергетический обмен, фармакотерапия, митохондрии.

## SOME MECHANISMS OF BIOENERGY DISORDERS AND OPTIMIZATION OF THE APPROACHES TO ITS PHARMACOTHERAPY

Kashuro V.A., Dolgo-Saburov V.B., Basharin V.A., Bonitenko E.Yu., Lapina N.V.

*Federal State Scientific Institution «Institute of Toxicology» Federal Medico-Biological Agency, St. Petersburg, Russia*

**Abstract.** The molecular mechanisms of energy supply disorders in the cells during hypoxia are considered. Deficiency of oxidized form NAD and increase NADH/NAD ratio lead to disruptions such as disorders of glycolysis, citric acid cycle, exchange of lipids and amino acids, activation of free-radical processes and apoptosis. The main directions of energy metabolism support therapy during hypoxia are formulated.

**Key words:** hypoxia, bioenergy metabolism, pharmacotherapy, mitochondria.

Изучение молекулярных механизмов энергообеспечения организма продолжает оставаться в ряду приоритетных проблем современной биологии и медицины. Энергетический обмен в биохимической литературе обычно определяют как совокупность фермента-

тивных реакций, в ходе которых потенциальная энергия субстратов (главным образом углеводов, жиров и белков) аккумулируется в форме, пригодной для выполнения работы [1].

Энергетическую обеспеченность определяет пул адениннуклеотидов, трансформирующихся в энергию АТФ, и субстратов, способствующих ее ресинтезу. На долю АТФ приходится до 80% общего количества всех адениловых нуклеотидов, уровень которых в клетках поддерживается на относительно постоянном уровне [2]. Основная масса АТФ образуется путем окислительного фосфорилирования в локализованной в митохондриях окислительной цепи и лишь небольшая — в результате субстратного фосфорилирования. АТФ является основным соединением, определяющим состояние энергетического потенциала биосистемы и связующим звеном процессов, идущих с выделением и потреблением энергии.

Известно, что более 90 % энергии высвобождается в ходе аэробных, то есть зависящих от молекулярного кислорода процессов, протекающих в митохондриях [1, 3]. Приблизительно 20-40% энергии затрачивается на «утечку» протонов (proton leak) через внутреннюю мембрану митохондрий. Оставшиеся 60-80 % сопряжены с синтезом АТФ, необходимого для поддержания синтеза белков (20 - 30%), трансмембранного градиента ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  (20 - 28%) и  $\text{Ca}^{2+}$  (4 - 8%), активности различных АТФ-аз и других энергозависимых процессов (15-20%) [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Таким образом, 66 – 90% синтезируемой АТФ в тканях млекопитающих используется для поддержания биосинтеза белков и функционирования ионных помп [10, 11].

Скорость синтеза АТФ уравнивается скоростью его распада и строго соответствует энергетическим потребностям клетки. Для этого необходима координированная деятельность гликолитических процессов и окислительного фосфорилирования. Это достигается согласованной регуляцией всех этапов заключительного пути катаболизма, включающего превращение пирувата в ацетил-КоА, цитратный цикл и электрон-транспортную цепь. Увеличение скорости утилизации АТФ для совершения различных видов работы увеличивает концентрацию АДФ, что ускоряет окисление НАДН в электрон-транспортной цепи и, следовательно, повышает скорость реакций, катализируемых НАД-зависимыми дегидрогеназами. Так, окисление пирувата может происходить только в том случае, если электроны и протоны от НАДН и ФАДН<sub>2</sub> поступают в дыхательную цепь. Таким образом, отношение АТФ/АДФ и НАДН/НАД – главные модуляторы скорости реакций общего пути катаболизма [12]. На заключительном этапе катаболизма наиболее важными регуляторными ферментами являются пируватдегидрогеназный комплекс, цитратсинтаза, изоцитратдегидрогеназа и  $\alpha$ -кетоглутаратный комплекс [13, 14, 15]. Координированный контроль активности этих ферментов осу-

ществляется различными способами: доступностью субстратов, ингибированием продуктами реакций, аллостерически и путем ковалентной модификации [13, 16, 17]. Важное значение в регуляции активности перечисленных ферментов также играет соотношение НАДН/НАД. При повышении концентрации НАДН активность регуляторных ферментов снижается. Это, в свою очередь, приводит к аллостерической инактивации пируватдегидрогеназы и блокированию других НАД - зависимых ферментов цикла трикарбоновых кислот: изоцитратдегидрогеназы,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы, малатдегидрогеназы [18].

Не вызывает сомнений справедливость представлений о том, что нарушения биоэнергетических систем клетки играют первостепенную роль в реализации повреждающих эффектов факторов различной природы, воздействие которых в конечном счёте приводит к нарушениям физиологических функций организма в целом. Учитывая центральное значение энергетики клетки в жизнеобеспечении организма, основное внимание при анализе путей использования фармакологических препаратов для коррекции вызванных повреждающими воздействиями нарушений продукции макроэргических соединений следует обратить на характеристику влияния на метаболические системы митохондрий, играющие ведущую роль в поддержании энергетического потенциала.

Вполне естественно, что одним из наиболее общих по характеру повреждающего воздействия на систему энергообеспечения организма факторов является гипоксия. В большинстве случаев в условиях гипоксии анаэробные механизмы генерации макроэргических фосфатов (анаэробный гликолиз) не в полной мере компенсируют нарастающий дефицит их продукции в системе окислительного фосфорилирования [19, 20]. В условиях гипоксии снижается приток к клетке как кислорода, так и энергетических субстратов. В результате кислородная недостаточность приводит к нарушению всех видов обмена и функционального состояния жизненно важных органов и систем. Выраженность этих нарушений в различных органах и тканях неодинакова. Так, печень может нормально функционировать практически в анаэробных условиях в течение часа, скелетные мышцы – около 30 минут, кора головного мозга – в течение 5-7 секунд [21, 22]. В течение короткого времени происходит изменение функциональной и биохимической активности органов и тканей, после чего наступает необратимое повреждение. Характер перестройки метаболизма является стереотипным и неспецифическим, его основу составляет экономная утилизация кислорода клетками, эффективное потребление субстратов при затрудненном обновлении их фонда, снижение интенсивности окислительного фосфорилирования и торможение биосинтеза метаболитов пластического обмена [23]. Общая реакция организма при гипоксии сводится к поэтапному от-

ключению ряда энергопотребляющих процессов с целью мобилизации имеющихся энергетических ресурсов на выполнение наиболее жизненно важных функций. В связи с этим большое внимание привлекают пути перестройки функционирования дыхательной цепи митохондрий, связанные с определенными парциальными реакциями энергетического метаболизма, позволяющими сохранить жизнеспособность клетки при гипоксии различного генеза.

Определенный вклад в понимание механизмов нарушения биоэнергетики в условиях дефицита кислорода внесли представления о «биоэнергетической гипоксии», выдвинутые Д.М.Джонсом [24] и являющиеся дальнейшим развитием представлений о тканевой гипоксии. В соответствии с представлениями Д.Джонса этот тип гипоксии рассматривается как результат нарушения кинетических свойств цитохромоксидазы в условиях кислородной недостаточности. Однако уже в конце 50-х годов было обнаружено явление «гипоксического парадокса», в соответствии с которым нарушения биоэнергетики возникают до снижения тканевой концентрации  $O_2$  до критического уровня, т.е. до падения активности цитохромоксидазы и соответствующей утилизации кислорода. Работами R. Araki и соавторов (1983, 1989) и H. Fukuda и соавторов (1989) показано, что при снижении содержания кислорода в тканях выраженные метаболические изменения наступают до уменьшения его потребления клетками. Эти факты свидетельствовали о существовании отличных от цитохромоксидазы лимитирующих участков аэробного образования энергии. Таким образом, энергетический обмен является центральным звеном в каскаде метаболических изменений при кислородной недостаточности.

Полученные в последствии экспериментальные материалы показали, что по мере снижения содержания кислорода для сохранения энергетического гомеостаза в клетке первоначально наблюдается активация НАДН-зависимого окисления субстратов [28, 29]. Это проявляется в первую очередь в переходе митохондрий из состояния покоя в состояние активного дыхания, что сопровождается увеличением содержания АТФ [30, 31, 32]. Процесс стимулируется за счет увеличения содержания АДФ в клетке. При этом функциональная активность клеток, например, сократительная способность миокарда, усиливается [33]. Характер подобных изменений позволяет рассматривать активацию тканевого дыхания как своеобразную срочную компенсаторную неспецифическую реакцию на гипоксию. Эта реакция непродолжительна и вскоре в условиях кислородного дефицита возникает биоэнергетическая гипоксия [34]. Установлено, что при биоэнергетической гипоксии нарушения функционирования дыхательной цепи начинаются не на цитохромном, а на её субстратном участке, т.е. на уровне митохондриального ферментативного комплекса, приводящие к нарушениям

энергосинтезирующей функции митохондрий. Различают три стадии этого сложного фазного процесса [34]. Первая стадия (компенсаторная) связана с инактивацией НАД-зависимого пути окисления, что приводит к торможению переноса электронов на участке НАДН-КоQ, накоплению восстановленных пиридиннуклеотидов и утрате способности образования АТФ в первом пункте окислительного фосфорилирования. Это становится пусковым механизмом для переключения субстратного участка с комплекса I на комплекс II и усиления сукцинатоксидазного пути. Вторая стадия (некомпенсируемая) сопровождается подавлением электронно-транспортной функции дыхательной цепи в области цитохромов b-c. Третья стадия (терминальная) возникает в условиях аноксии и характеризуется ингибированием цитохромоксидазы. Кинетические свойства цитохромоксидазы, определяющие ее высокое сродство к кислороду позволяют ей функционировать вплоть до наступления аноксии [35]. Все стадии биоэнергетической гипоксии коррелируют с изменениями в содержании АТФ и ведущих энергозависимых процессов в клетках. На изолированных гепатоцитах, весьма чувствительных к изменениям в содержании кислорода в среде, показано, что наблюдаемая активация гликолиза не способна предотвратить снижение содержания АТФ и обеспечить его поддержание на стационарном уровне [36]. Высокая потребность мозга в кислороде вследствие больших энергетических затрат нервных клеток в нормоксических условиях поддерживается скоростью синтеза АТФ, превосходящей другие ткани по количеству и обороту молекулы АТФ в единицу времени. При гипоксической гипоксии и ишемии содержание АТФ и других макроэргических фосфатов в головном мозге значительно снижается [29]. Среди макроэргов первым на дефицит кислорода реагирует ГТФ. Его можно рассматривать в качестве маркера ранних признаков гипоксии, которому принадлежит ведущая роль в развитии обратимых и необратимых изменений. В печени крыс в первые 30 с ишемии увеличивается содержание АДФ, АМФ и неорганического фосфата на фоне снижения содержания АТФ [37].

Таким образом, возможности образования митохондриальной АТФ – наиболее эффективной формы аккумуляции энергии и в физиологических условиях преобладающей над другими способами образования АТФ, — при кислородной недостаточности ограничены.

По мере снижения содержания АТФ в клетке наблюдается уменьшение АТФ-зависимых реакций, в том числе, например, синтеза ацилкарнитина, что нарушает доставку жирных кислот через внутреннюю мембрану митохондрий. Уменьшение образования ацетил-КоА особенно неблагоприятным образом сказывается на метаболической активности миокарда, который в большей степени потребляет жирные кислоты, чем другие органы. Кроме того, кислородная недостаточность вызывает снижение окисления различных метаболитов

до ацетил-КоА, в том числе и жирных кислот. Нарушение функционирования метаболической цепи  $\beta$ -окисления вызывает накопление промежуточных продуктов окисления жирных кислот, основным из которых является ацил-КоА, способный вместе со свободными жирными кислотами тормозить дыхание и фосфорилирование в митохондриях. Для исключения субстратного дефицита в клетке происходит перераспределение энергетического потока с жирных кислот на глюкозу. Этому способствуют повышение концентрации катехоламинов в крови, влияние вторичных мессенджеров – циклических нуклеотидов и ионов кальция, что приводит к активации процесса расщепления гликогена в печени. По мере снижения содержания АТФ и увеличения АМФ в цитоплазме происходит активация ключевых ферментов гликолиза, в первую очередь фосфофруктокиназы. Запускаемый в цитоплазме процесс гликолиза протекает параллельно с аэробным окислением субстрата в митохондриях, что на время повышает энергопродуцирующие возможности клетки. За первоначальной стадией усиления гликолиза наступает ослабление его реакций вплоть до полной остановки. Расходование глюкозы и гликогена создают недостаточность таких гликолитических субстратов, как фосфорилированные формы глюкозы и фруктозы. Накапливающийся в условиях гипоксии цитрат тормозит фосфофруктокиназу. Для поддержания интенсивности гликолитических реакций необходимо наличие НАД, являющегося кофактором реакции окисления глицеральдегидфосфата. Его восполнение осуществляется на последнем этапе гликолитической оксидоредукции при образовании конечного продукта гликолиза – лактата, что приводит к накоплению молочной кислоты. Этому способствует и торможение пируватдегидрогеназы, препятствующее окислению пирувата в цикле трикарбоновых кислот, что сдвигает лактатдегидрогеназную реакцию в сторону образования лактата [38].

Избыточное содержание лактата в цитоплазме ведет к негативным последствиям для клетки. Происходит снижение рН среды, что снижает потребление глюкозы в клетках, подавляет ее транспорт [39]. Угнетение окисления глюкозы лактатом может быть вызвано различными механизмами и на различных стадиях гликолиза. Избыток лактата оказывает ингибирующее влияние на фосфофруктокиназу и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, что тормозит гликолиз, разобщает дыхание и фосфорилирование, ингибирует креатинкиназу [40, 41]. Снижается содержание пиридиннуклеотидов, происходит выход из тканей лактатдегидрогеназы [42, 43]. В результате гликолитическое расщепление глюкозы вскоре прекращается. Выявлено, что уровень лактата в крови является маркером тяжести патологического процесса и свидетельствует о развитии тканевой гипоксии с метаболическими нарушениями [44].

Накопление лактата при гипоксии — не единственная причина сдвига клеточного рН в кислую сторону. Угнетение утилизации кетоновых тел приводит к накоплению органических кислот — ацетоуксусной и  $\beta$ -гидроксимасляной. Увеличение содержания лактата активирует его метаболизм через ацетальдегид и этанол, увеличение содержания которых также угнетает работу дыхательной цепи митохондрий [45]. Таким образом, поставляя до 80% всей образующейся энергии, гликолиз в состоянии удовлетворить потребности метаболизма лишь на треть.

При гипоксии возрастает роль малат-аспартатного шунта, доставляющего НАДН<sub>2</sub> в дыхательную цепь. Митохондриальная и цитоплазматическая формы малатдегидрогеназы, функционирующие сопряженно с помощью аспартатаминотрансферазы, обеспечивают транспорт восстановительных эквивалентов из цитоплазмы в митохондрии. Скорость работы малат-аспартатного челночного механизма пропорциональна концентрации малата. Гипоксия вызывает увеличение активности малатдегидрогеназы и аспартатаминотрансферазы в митохондриях и снижение их активности в цитоплазме клеток.

На фоне ингибирования при гипоксии пируватдегидрогеназной и оксоглутаратдегидрогеназной реакции происходит усиление нарушения функционирования цикла трикарбоновых кислот [46]. Активируется карбоксилирование пирувата и  $\alpha$ -кетоглутарата, приводящее к избыточному накоплению в тканях оксалоацетата, малата и цитрата и увеличению содержания фумарата, оксоглутарата [29, 47]. В результате на фоне развивающегося дефицита окисленной формы НАД и повышения отношения НАДН/НАД клетка теряет возможность окислять ряд энергетических субстратов даже при их наличии, что сопровождается развитием состояния, обозначенного Л.Д. Лукьяновой (1991) как «субстратный голод». Основные пути образования восстановленных пиридиннуклеотидов представлены на рисунке 1.

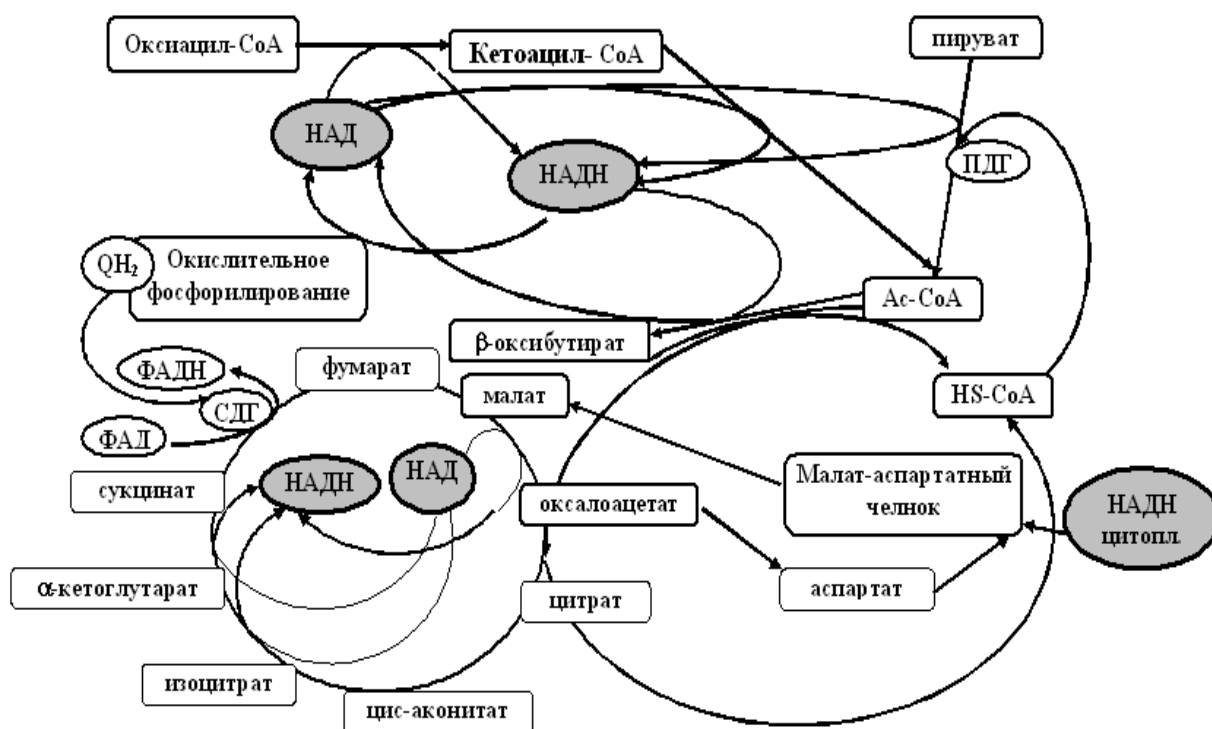


Рис. 1. Обмен восстановленной (НАДН) и окисленной (НАД) форм кофермена в митохондри (по Бонитенко Е.Ю., 2003 с изменениями и дополнениями)

Следует обратить внимание на то, что на определенном этапе недостатка кислорода при дефиците окисленной формы НАД и её замещении на восстановленную форму НАДН<sub>2</sub>, флавопротеидные коферменты продолжают оставаться в окисленной форме [48]. Эти различия, возможно, связаны не только с тем, что НАД является более удаленным от конечного акцептора по сравнению с флавинами и цитохромами, но и кинетическими особенностями организации дыхательной цепи. После первого комплекса на пути перемещения протонов располагается наиболее медленный переносчик – коэнзим Q, на уровне которого возможно перераспределение и торможение потока восстановительных эквивалентов. В связи с этим, определенный интерес представляют исследования, направленные на анализ возможности коррекции нарушений процессов энергообеспечения с использованием янтарной кислоты, окисление которой в цикле Кребса осуществляется сукцинатдегидрогеназой (СДГ). Работами Е.И. Маевского и соавторов (1996, 1997) показано, что в условиях гипоксии и ингибирования дыхательной цепи митохондрий накапливающиеся в клетке или добавленные в среду *in vitro* субстраты малат, оксалоацетат, оксоглутарат могут вызывать окисление пиридиннуклеотидов и анаэробное образование сукцината, за счет которого возможно сохранение ды-

хания митохондрий и поддержание трансмембранного потенциала ионов водорода. Являясь субстратом реакции, зависимой от окислительного потенциала флавинадениндинуклеотидов (ФАД), янтарная кислота характеризуется энергетическим преимуществом по сравнению с НАД-зависимыми субстратами, заключающимся в более высокой скорости окисления с последующей поставкой макроэргических соединений, а также в более интенсивном включении протонов в дыхательную цепь [51]. Более того, конкурентный ингибитор СДГ – щавелевоуксусная кислота может накапливаться только при высокой степени окисленности НАД, поскольку легко восстанавливается до малата при увеличении концентрации НАДН [52]. СДГ-зависимый путь окисления интермедиатов цикла трикарбоновых кислот устойчив к кислородной недостаточности и восполняет недостаточность заблокированного НАД-зависимого участка окисления субстратов [53, 54]. Особую роль при этом начинают играть процессы избирательного накопления янтарной кислоты, протекающие без участия НАД по пути формирования из продуктов метаболизма жирных кислот (ацетил-КоА, малонил-КоА, пропионил-КоА), восстановительного синтеза пирувата с использованием НАДН<sub>2</sub>, образования из глутаминовой кислоты в цикле Робертса, интермедиатами которого являются  $\gamma$ -аминомасляная кислота, янтарный полуальдегид и  $\gamma$ -оксимасляная кислота. Реакции анаэробного образования сукцината тесно связаны с митохондриально-цитоплазматическими шунтами, обеспечивающими перенос восстановительных эквивалентов из цитозоля в митохондрии, что способствует поддержанию гликолитической оксидоредукции с уменьшением образования избыточного лактата [55]. Характерные для гипоксии метаболические сдвиги (накопление жирных кислот, снижение внутриклеточного pH, повышение фонда НАДН<sub>2</sub>) способствуют реализации путей использования сукцината. Пути стимулированного образования янтарной кислоты при гипоксии характеризуются определенной общностью, заключающейся в обходе «узкого звена» функционирования системы окисления, которым в этих условиях является дефицит НАД.

Хорошо известно, что накопление при гипоксии сукцината оказывает положительное влияние не только на процессы энергообеспечения, но также и на пластические процессы. Это обстоятельство обусловлено использованием четырёхуглеродистого скелета янтарной кислоты для синтеза компонентов окислительных систем клетки – гемоглобина, цитохромов, пероксидазы, каталазы и миоглобина [56, 57].

Преимущества сукцината ведут к повышению энергетической обеспеченности тканей [58]. Таким образом, адаптация к гипоксии основана на переходе на преимущественное накопление и использование янтарной кислоты, позволяющей усиливать в качестве суб-

страта энергопродукции пластические процессы, повышение неспецифической резистентности, т.е. на обеспечение реализации комплекса явлений, обозначаемых как «постгипоксическая активация» [59].

В дальнейшем нарушения электротранспортной функции дыхательной цепи могут распространяться к цитохромному сегменту (цепь цитохромов b-c) и к цитохромоксидазе, которая инактивируется последней. По-видимому, именно в результате этих причин оказывается не эффективным использование препаратов янтарной кислоты. Анализ данных в группе умерших больных, в интенсивную терапию которых был включен сукцинат-содержащий препарат цитофлавин, позволил сделать вывод о его неэффективности в условиях резко сниженной доставки кислорода к тканям, которая была обусловлена выраженной неэффективностью кислородтранспортных систем даже на фоне проводимой ИВЛ с подачей 100% кислорода и кардиотонической поддержки [60]. Полученные результаты и их анализ позволяют выдвинуть гипотезу о том, что сукцинат может вызвать метаболическую десинхронизацию, если активация метаболических процессов проходит в условиях глубокого угнетения тканевого дыхания [61].

Работами последних лет установлено, что важная роль в регуляции работы дыхательной цепи принадлежит ацетальдегиду. Повышение его содержания в условиях кислородной недостаточности снижает уровень восстановленного убихинона и ослабляет его ингибирующее действие на активность сукцинатдегидрогеназы. Возможно, при увеличении длительности гипоксии или ее тяжести происходит резкое увеличение содержания ацетальдегида, которое приводит к превращению значительного пула убихинона в полуацеталь. Последний не способен участвовать в окислительно-восстановительных реакциях дыхательной цепи. В конечном итоге при столь низком содержании активного убихинона становится невозможным обеспечение функционирования СДГ-зависимых реакций [38].

Таким образом, условием эффективности терапии гипоксических состояний препаратами янтарной кислоты следует считать восстановление адекватной доставки кислорода тканям и его включение в энергетические процессы на клеточном уровне. В настоящее время, как показали экспериментальные и клинические исследования, таким препаратом является перфторан [62]. Необходимо отметить, что чем активнее препарат метаболического действия, тем точнее необходимо соблюдать условия его применения у больных в критическом состоянии.

Несмотря на включение компенсаторных механизмов увеличение расхода энергетических субстратов над их синтезом приводит к быстрому снижению содержания макроэрги-

ческих фосфатов, что является тяжелым мембраноповреждающим фактором. Результатом истощения макроэргов является угнетение активности  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы, приводящее к деполаризации клеточных мембран, в том числе и митохондриальных, и нарушению их функций [63]. Происходит ослабление пластических процессов по замене поврежденных мембранных структур и дефосфорилирование мембранных белков [64].

Гипоксия и ацидоз индуцируют освобождение из внутриклеточных мембран и накопление в цитоплазме ионов кальция, которые транспортируются в митохондрии и, в свою очередь также, ингибируют окислительное фосфорилирование [65]. В нейронах нарушение кальциевого обмена обусловлено активацией NMDA-рецепторов глутаматом, накопление которого в условиях энергетического дефицита при гипоксии связано со сдвигом равновесия между  $\alpha$ -кетоглутаратом и глутамином в результате торможения использования  $\alpha$ -кетоглутарата в цикле трикарбоновых кислот. Изменение концентрации ионов кальция активируют  $\text{Ca}^{2+}$ -опосредованную фосфолипазу митохондрий, что приводит к изменению наружного потенциала митохондриальной мембраны и нарушению синтеза АТФ [66, 67, 68]. Ю.А. Владимиров и Э.М. Коган (1981) полагают, что центральным звеном механизмов нарушения биоэнергетических функций мембран митохондрий при гипоксии является аккумуляция клетками избытка ионизированного кальция в результате нарушений его выведения и внутриклеточного депонирования.

Другим важным фактором, играющим роль в патогенезе повреждений митохондриального аппарата клетки при гипоксии и развивающимся энергодефиците, является активация системы свободнорадикального окисления. Известно, что и в условиях адекватного обеспечения кислородом митохондриальные ферментные ансамбли способны генерировать гидропероксид и супероксид-анионы зависимым от НАДН образом. Следует отметить, что этот процесс в значительной степени активируется при гипоксии и в конечном счёте приводит к формированию синдрома окислительного стресса [69, 70, 71].

Известно, что супероксидные радикалы ингибируют ферменты дыхательной цепи [72], усиление процессов ПОЛ приводит к изменению активности сукцинат- и глутаматдегидрогеназ, аденозинтрифосфатаз [73, 74]. Накопление недоокисленных продуктов свободнорадикального окисления усиливает метаболический ацидоз [75].

Нарушение липидного обмена при гипоксии усиливает развитие процессов ПОЛ за счет детергентного действия на липидные структуры мембран свободных жирных кислот и продуктов их неполного окисления [76, 77]. Процессам ПОЛ наиболее подвержены ненасыщенные жирные кислоты, большая часть которых входит в состав фосфолипидов, являю-

щихся структурными компонентами клеточных мембран и принимающих участие в ряде метаболических процессов [78]. Ведущая роль в пусковом механизме ПОЛ при гипоксии и ишемии отводится наружным митохондриальным мембранам, богатым липидами [79]. Кроме того, активация ПОЛ приводит к лабильзации лизосомальных мембран, а также сопровождается ингибированием  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азы и повышенной проницаемостью мембран для ионов натрия и калия [80].

Наиболее чувствительным к продуктам свободнорадикальных реакции является первый митохондриальный ферментный комплекс. Это свидетельствует о том, что активные формы  $\text{O}_2$  в наибольшей степени ингибируют транспорт электронов между НАД-дегидрогеназами и убихиноном и в меньшей степени – между убихиноном и цитохромом с. Некоторые авторы считают, что активация процессов ПОЛ может быть одной из причин утечки убихинона и цитохрома с и нарушения электронотранспортной функции третьего митохондриального ферментного комплекса [34].

Таким образом, при гипоксии в тканях нарушается баланс между образованием и потреблением продуктов ПОЛ и преобладает генерация липидных метаболитов над скоростью их потребления. Причем увеличение содержания продуктов ПОЛ сопровождается в целом уменьшением активности антиоксидантных систем, что является еще одним звеном в порочном круге нарушений энергетического метаболизма.

Существенным компонентом цепи событий, ведущих к поражению клетки при гипоксии, является активизация процессов апоптоза, или программируемой гибели клетки. Существуют убедительные доказательства того, что центральная роль в развитии апоптоза и некроза принадлежит митохондриям, изменению проницаемости их мембран в результате формирования специфического комплекса митохондриальных пор и инициированию митоптоза. В митохондриях содержится несколько апоптогенных факторов: цитохром с, AIF (Apoptosis Inducing Factor), эндонуклеаза G, белки SMAC/DIABLO и OMI/HTRA2. Под действием АФК происходит открытие митохондриальных пор с экспрессией и выходом в цитозоль апоптогенных факторов. Цитохром с вызывает в цитоплазме образование апоптосомы: высокомолекулярного комплекса, активизирующего каспазу-9. AIF из митохондрии транслицируется в ядро, где индуцирует фрагментацию ДНК и конденсацию периферического хроматина. Эндонуклеаза G также транслицируется из митохондрии в ядро и вызывает деградацию ДНК независимо от каспаз или дезоксирибонуклеазы. SMAC/DIABLO связывает в цитоплазме белки семейства IAP (Inhibitor of Apoptosis Proteins), которые ингибируют каспазы. OMI/HTRA2 — сериновая протеаза, которая участвует в регуляции как каспаза-зависимого,

так и каспаза-независимого пути развития апоптоза, а также блокирует связывание IAP с каспазами [81].

Открытие пор происходит за счет окисления тиоловых групп цистеинзависимого участка белка внутренней мембраны митохондрий (АТФ/АДФ-антипортер), что превращает его в проницаемый неспецифический канал-пору. Образование канала-поры регулируется белками семейства BCL-2 и изменением концентрации ионов кальция в матриксе митохондрии. Открытие пор превращает митохондрии из «электростанций» в «топку» субстратов окисления без образования АТФ. Установлено, что нарушение кислородного режима тканей, гиперпродукция эксайтотоксичных аминокислот, снижение «нормальной» аккумуляции  $\text{Ca}^{++}$  митохондриями, повреждение мембраны митохондрий АФК усиливает открытие пор и высвобождение апоптогенных белков из поврежденных митохондрий. Протеазы лизосом также повреждают мембраны митохондрий и способствуют выходу цитохрома С, других апоптогенных факторов и активации каспаз. Формирование апоптосомного комплекса, состоящего из цитохрома С, Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1 — активирующий протеазу фактор-1) и каспазы-9, играет основную роль в реализации сценария программируемой гибели клетки, индуцируемой гипоксией [82].

Совокупность знаний о биоэнергетической гипоксии может быть рассмотрена как основа для формирования научно обоснованных рациональных подходов к ее фармакотерапии. В этом отношении кажется привлекательным использование субстратов ферментативных комплексов митохондрий, однако развивающиеся при дефиците  $\text{O}_2$  нарушения трансмембранного транспорта, сдвиги соотношения восстановленных и окисленных форм кофакторов ферментативных реакций и недостаточно компенсированные на определенных стадиях гипоксии сдвиги рН не являются обстоятельствами, способствующими их эффективной утилизации. Фазность нарушений электронтранспортной и энергосинтезирующей функции дыхательной цепи, лежащая в основе биоэнергетической гипоксии, определяет тактику фармакологической коррекции аэробного обмена в условиях гипоксии [83]. На первом уровне (компенсированном) объем расхода энергии в организме полностью удовлетворяется реакциями, позволяющими обеспечить достаточный уровень макроэргов. На втором (декомпенсированном) развивается несоответствие между количеством образующейся энергии и ее потреблением, что сопровождается снижением уровня макроэргов в клетках. В этом случае эффекты фармакологических препаратов могут быть направлены как на увеличение образования энергии, так и оптимизацию процессов потребления энергии организмом. Третий уровень — критический, энергетический «кризис» при этом достигает состояния, когда

любые экзогенные вмешательства, способные дополнительно снизить существующий минимальный уровень энергии, находящийся в клетке приводят к неконтролируемому каскаду реакций, приводящих к гибели клетки.

Скорость перехода между этим уровнями определяется большим количеством факторов, в том числе особенностями метаболизма конкретного организма, внешними условиями, особенностями фармакокинетики и фармакодинамики вводимых препаратов, их дозой, и т.д. Однако можно предположить, что в условиях, когда энергетический метаболизм компенсирован, экзогенное введение субстратов энергетического обмена не окажет значимого эффекта на состояние организма. Их использование в декомпенсированную стадию может быть эффективным, в случае преодоления лимитирующего метаболизм барьера, что в целом является обоснованием для поиска ключевых звеньев патогенеза нарушения биоэнергетики. В тех же случаях когда формируется критический уровень, дополнительная трата энергии, например, на процессы активации субстратов, их переноса через биологические барьеры, активацию синтеза переносчиков, ферментов для метаболизма этого субстрата или другие процессы, приводит к разрушительным изменениям в клетке. Подобная динамика процесса в конечном итоге соответствует второму закону термодинамики и приводит к увеличению энтропии в системе.

Следует согласиться с представлениями о том, что на ранних стадиях фармакологическая коррекция систем энергообеспечения должна включать восстановление электронотранспортной и сопрягающей функций НАД-зависимого участка дыхательной цепи, а также активацию компенсаторных метаболических механизмов, обеспечивающих доставку электронов на цитохромный участок цепи [31, 34]. Такими свойствами обладают производные инонов. При участии менадионредуктазы (ДТ-диафоразы) они способны к переносу восстановительных эквивалентов с вовлечением НАД-зависимых оксидоредуктаз и цитохромов дыхательной цепи. К подобным препаратам может быть отнесен витамин К3 (менадион или 2-метил-1,4,9-нафтохинон). Встраиваясь в дыхательную цепь и шунтируя поток электронов на участке от НАДН КоQ, он способствует восстановлению прерванного при гипоксии потока электронов к цитохромоксидазе [30, 84]. В ходе экспериментального изучения этого препарата было показано, что введение менадиона в перфузат изолированного сердца в условиях гипоксии средней тяжести приводит к увеличению окисленности внутриклеточного пула пиридинов и одновременно к увеличению скорости дыхания миокарда, а также к снижению потерь АТФ [38].

Восстановлению функционирования дыхательной цепи способствуют синтетические убихинон-содержащие препараты из класса редокс-полимеров, среди которых известность приобрел олифен [85]. Антигипоксические свойства олифена связаны с присутствием в его структуре полифенольного убихинонового компонента, участвующего в дыхательной цепи переноса электронов. Олифен в митохондриях непосредственно взаимодействует с ферментами дыхательной цепи, шунтируя транспорт электронов. В условиях дефицита кислорода использование олифена сопровождается окислением восстановленных никотиновых и флавиновых нуклеотидов [86]. Имеются данные о наличии у олифена и антиоксидантных свойств. [87].

Для усиления альтернативного НАДН-оксидазного пути образования АТФ используют средства, участвующие в сукцинатоксидажном окислении, стимуляция которого достигается активацией сукцинатдегидрогеназной реакции путём воздействия сукцинатсодержащих соединений, облегчающих транспорт сукцината в клетки [88, 89]. Повышения биодоступности сукцината добиваются комбинированием его с различными метаболитами (лимонной, яблочной кислотами). Соли янтарной кислоты и смеси (лимонтар — сукцинат натрия и лимонная кислота) становятся доступными митохондриям и окисляются в них [90]. Более перспективным является путь повышения активности сукцинатдегидрогеназы и активации эндогенного образования сукцината. Это достигается использованием фармакологических препаратов, являющихся предшественниками сукцината или улучшающих его проникновение через гисто-гематические барьеры, например мексидола - производного оксипиридина [89].

На более поздних стадиях гипоксии могут быть рекомендованы препараты цитохрома С и КоQ, способствующие восстановлению функциональной активности дыхательной цепи митохондрий. КоQ (убинон) в качестве редокс-медиатора дыхательной цепи на участке между флавопротеиндегидрогеназой и цитохромами стабилизирует внутренние мембраны митохондрий, снимет ингибирование сукцинатоксидазы и НАДН-оксидазы [38].

Не менее важным в сложившихся условиях может явиться применение ингибиторов ферментов апоптоза, каспаз, таких как используемых пока лишь в экспериментах z-DEVD-фторметилкетон и z-VAD-фторметилкетон.

Учитывая развитие окислительного стресса как одного из весьма серьёзных спутников гипоксических состояний, вызывающего выраженные структурно-функциональные нарушения митохондриального аппарата и клетки в целом, следует учитывать возможность использования препаратов, блокирующих парциальные реакции свободнорадикальных процес-

сов, к числу которых следует отнести цитохром с, токоферолы, убихиноны, производные глутатиона, а также флавоноиды, в том числе растительного происхождения, использованию которых в последние годы уделяется серьёзное внимание. [38]

Таким образом, анализ механизмов нарушения биоэнергетики, понимание ведущей роли энергетического обмена в формировании «каскада» других метаболических расстройств позволяет сформулировать основные направления фармакотерапии, корректирующей и поддерживающей энергетический обмен при гипоксических состояниях:

- «разгрузка» дыхательной цепи и НАД-зависимых дегидрогеназ от избытка электронов и восстановление системы ресинтеза АТФ;
- защита цитоплазматических и митохондриальных мембран;
- ограничение потребления кислорода за счет ингибирования нефосфорилирующих реакций окисления;
- оптимизация окисления пирувата, для устранения развития лактатацидоза;
- уменьшение количества и токсичности продуктов анаэробного обмена;
- повышение активности антиоксидантной системы и регуляция процессов апоптоза.

В настоящее время для коррекции энергетического обмена с разным успехом используются препараты различных фармакологических групп. Не вызывает сомнений утверждение, что максимальный эффект фармакотерапии нарушений биоэнергетики возможен при комбинированном применении препаратов, действующих на различные патогенетические звенья метаболических нарушений. К сожалению, до настоящего времени не разработаны четкие критерии и принципы их совместного применения, а также возможность их использования на различных стадиях биоэнергетической гипоксии.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т., Т.2. Пер с англ.– М.: Мир, 1985. – 386 с.
2. Banks B., Vernon C. Reassessment of the role of ATP in vivo // J. Theor. Biol. – 1970. – Vol. 56, №5. – P. 1059-1074
3. Самойлов В.О. Транспорт веществ в организме (биомембранология) // Медицинская биофизика: Под. ред. В.О. Самойлова.– Л., 1986.– С. 107-238
4. Бегшоу К. Мышечное сокращение. – М.: Мир, 1985. – 115 с.
5. Иванов К.П. Основы энергетики организма. – Том 1, Л., 1990. – 307 с.
6. Rolfe D.F.S., Brown G.C. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals // Physiol. Rev. – 1997. – Vol.77. – P.732-758.
7. Hulbert A. J., Else P. L. Mechanisms underlying the cost of living in animals // Ann. Rev. Physiol. – 2000. – Vol.62. – P.207 -235.
8. St-Pierre J., Brand M.D., Boutilier R.G. Mitochondria as ATP consumers: cellular treason in anoxia // Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97. – 2000. – P.8670–8674.
9. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия.– М.: Медицина, 2007.– 704 с.
10. Скулачев В. П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1989. –123с.
11. Rolfe D.F.S., Newman J.M.B. et al. Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR // Am. J. Physiol. – 1999. – Vol. 276. – P.C692-C699.
12. Марри Р., Греннер Д. и др. Биохимия человека: В 2-х томах. Т. 1. Пер. с англ. : – М.:Мир, 1993. – 384 с.
13. Ленинджер А. Митохондрия. Молекулярные основы структуры и функции: Пер. с англ.– М.: Мир, 1966.– 316 с.

14. Ещенко Н.Д., Вилкова В.А. и др. Метаболизм глутамата в компартментах головного мозга при гипоксии//Гипоксия. Механизмы, адаптация, коррекция / Мат. Всерос. конф. – М., 1997. – С 40-41.
15. Ещенко Н.Д., Вилкова В.А. и др. Пути метаболизма пирувата в митохондриях головного мозга при гипоксии // Гипоксия в медицине / Мат. 3-й Междун. конф. – М., 1998. – Т. 6 № 2. – С. 42.
16. Storey K.B. A re-evaluation of the Pasteur effect // Mol. Physiol. – 1985. – Vol.8 – P.439
17. Щербак И.Г. Биологическая химия. – СПб, Изд-во СПбГМУ, 2005. – 480 с.
18. Rodichok L.D., Albers W. The effect of g-aminobutyric acid on sustrate-level phosphorylation in brain mitochondria//J. Neurochem. – 1980. – Vol. 34. – P. 808-812.
19. Иванов К.П. Основы энергетики организма: Теоретические и практические аспекты. Том 2. Биологическое окисление и его обеспечение кислородом.– Спб.: Наука, 1993.– 272 с.
20. Кондрашова М.Н., Маевский Е.И. Переменное использование углеводов и липидов как форма регуляции физиологического состояния // Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма.– М.: Наука, 1978.– С. 5-14.
21. Лопухин Ю.М., Коган Э. М. Критерии жизнеспособности органов и тканей перед трансплантацией. – М.: Медицина, 1975. – 282 с.
22. Alberti K.G. Biochemical consequences of hypoxia // J. Clin. Path. – 1977. – Vol.3., Suppl. 11. – P. 14.
23. Hochachka P.W. Living without oxygen: Closed and open systems in hypoxia tolerance. – Massachusetts, London, 1980. – 178 p.
24. Johnes D.M. Hypoxia and drug metabolism // Biochem. Pharm. – 1981. – Vol.30, №10. – P.1019-1023.
25. Araki R., Nashito I. Multicomponent analysis of near-infrared spectra of rat heart // Adv. Exp. Med. and Biol. – 1989. – Vol. 248. – P. 11-20.
26. Araki R., Tamura M., Yamazaki I. The effect of intracellular oxygen concentration on lactate, pyridine nucleotide reduction and respiration rate in the cardiac tissue // Circ. Res. – 1983. – Vol. 53. – P. 448-456.
27. Fukuda H., Yasuda H. et al. The oxygen Dependence of the energy state of cardiac tissue // Adv. Exp. Med. and Biol. – 1989. – Vol. 248. – P. 567-573.

28. Дудченко А.М. Пути и возможности стабилизации энергетических функций клеток при гипоксии // Гипоксия. Механизмы, адаптация, коррекция/Мат. Всерос. конф. – М., 1997. – С. 36-37.
29. Хватова Е.М., Сидоркина А.Н. и др. Макроэргические фосфаты как показатель оценки степени тяжести гипоксии мозга // Моделирование, патогенез и терапия гипоксических состояний. – Горький, 1989. – С. 4-10.
30. Лукьянова Л.Д., Германова Э.Л., Копаладзе Р.А. Закономерности формирования резистентности организма при разных режимах гипоксического preconditionирования: роль гипоксического периода и реоксигенации // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т.147, № 4. – С. 380-384
31. Лукьянова Л.Д. Гипоксия при патологиях. Молекулярные механизмы и принципы коррекции/ Л.Д. Лукьянова // Перфторорганические соединения в биологии и медицине: Сб. науч. тр. — Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2001. — С. 56-69
32. Лукьянова Л.Д., Дудченко А.М. и др. Действие интервальной нормобарической гипоксии на кинетические свойства митохондриальных ферментов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144, № 12. – С. 644-652.
33. Попова О.А., Замула С.В.//Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. М., 1989. С. 155-159.
34. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 124, № 9. – С. 244-254.
35. La Manna J.C, Kutina Nelson K.L. et al. Decreased rat brain cytochrome oxidase activity after prolonged hypoxia // Brain Res. – 1996. – Vol. 720, №1-2. – P. 1-6.
36. Luk'yanova L.D., Dudchenko A.M., Belousova V.V. Effect of various oxygen concentrations on the ATP content in isolated hepatocytes of rats adapted and nonadapted to hypoxia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1994. – Т.118, № 6. – С.1268-1272.
37. Frau D., Chanes M. et al. Phosphate, purphosphate and adenine nucleotides equilibrium in rat liver after ethionine ingestion and during ischaemia // Nutr. Rep. Int. – 1981. – Vol. 24, №3. – P. 531-542.
38. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов. – Спб.: Изд-во Н-Л – 2004. – 368 с.
39. Kayser B. Lactate during exercise at high altitude // Eur. J. Appl. Physiol. – 1996. – Vol. 74, №3. – P. 195-205.

40. Овчинников И.В., Ким Н.П. Влияние лактата на эффективность окисления глюкозы и сукцината гомогенатами миокарда // Укр. биохим. журн. – 1985. – Т. 57, № 4. – С. 72-75.
41. Четверикова Е.П., Крымская Р.А. Солюбилизация креатинкиназы митохондрий под влиянием лактата и других метаболитов // Укр. биохим. журнал. – 1983. – Т. 55, №2. – С. 158-161.
42. Opie L H. Metabolic heart disease with special refeence to carbohydrate metabolism in health and disease/In: Myocardial failure. Berlin etc, 1977. – P. 275-290.
43. Wetzels J.F., Wang X., et. al. Glycine protection against hypoxic but not phospholipase A 2-induced injury in rat proximal tubules // Am. J. Physiol. – 1993. – Vol. 264, №1, Pt. 2. – P. F94-F99.
44. Крузе Д.А. Клиническое значение определения лактата крови // Анестезиол. и реаниматол. – 1997. – № 3. – С. 77-83.
45. Корнеев А.А., Комиссарова И. А. О механизмах регуляции дыхательной цепи при гипоксии// Человек и лекарство/Тез. докл. II Рос. нац. конгр. – М., 1995. – С. 222.
46. Ещенко Н.Д., Вилкова В.А. и др.. Пути метаболизма пирувата в митохондриях головного мозга при гипоксии//Гипоксия в медицине/Мат. 3-й Междун. конф. – М., 1998. – Т. 6 № 2. – С. 42.
47. Siesjo B.K. Calcium-mediated processes in neuronal degeneration // Ann. N.J.Acad. Sci. – 1994. – Vol. 747. – P. 140-161.
48. Scholz R., Thurman R.G. et al. Flavin and pyridine nucleotide oxidation-reduction changes in perfused rat liver. I. Anoxia and subcellular localization of fluorescent flavoproteins // J.Biol. Chem. – 1969. – Vol.244. – P. 2371.
49. Маевский Е.И., Гришина Е.В. Сохранение митохондрий животных при гипоксии за счет анаэробных редокс превращений субстратов // Гипоксия в медицине / Мат. 2-й междун. конф. – М., 1996. – № 3. – С. 43.
50. Маевский Е.И., Гришина Е.В. и др.. Функциональная роль анаэробного образования сукцината в клетках на уровне целого организма//Гипоксия. Механизмы, адаптация, коррекция/Мат. Всерос. конф. – М., 1997. – С. 77.
51. Маевский Е.И. Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления. Возможные механизмы адаптации клетки к кислородному голоданию / Е.И. Маевский [и др.] // Биомедицинский журнал «Medline.ru». – 2000. – Т. 1, Ст. 3. – С. 32-36.

52. Маевский Е.И., Розенфельд А.С. и др. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий. – Пушино, 2001. – 155 с.
53. Лукьянова Л.Д., Балмуханов Б.С., Уголев А.Г. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. – М., 1982. – 301 с.
54. Кондрашова М.Н., Григоренко Е.В. Проявление стресса на уровне митохондрий, их стимуляция гормонами и регуляция гидроаэроионами // Журн. общей биол. – 1985. – Т. 46, № 4. – С. 516-526.
55. Кондрашова М.Н. Структурно-кинетическая организация цикла трикарбоновых кислот при активном функционировании митохондрий // Биофизика. – 1989. – Т. 34, Вып. 3. – С. 450-458.
56. Барбашова З.И. Акклиматизация к гипоксии и её физиологические механизмы. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1960. – 320 с.
57. Иржак Л. И. Гемоглобины и их свойства. – М.: Наука, 1983. – 150 с.
58. Кондрашова М. Н. Трансаминазный цикл окисления субстратов в митохондриях как естественный механизм адаптации к гипоксии // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. – М., 1988. – 66 с.
59. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – № 2. – С. 2-11.
60. Ливанов Г. А., Александров М. В. и др. Формирование, течение и пути коррекции гипоксических поражений головного мозга в ранней фазе острых отравлений нейротропными ядами // Анестезиология и реаниматология. – 2005. – №4. – С 49-52.
61. Ливанов Г. А., Александров М. В. и др. Метаболическая десинхронизация при критических состояниях. // Общая реаниматология. – 2006. – №1. – С. 42-46.
62. Ливанов Г. А., Батоцыренов Б.В., и др. Коррекция транспорта кислорода и метаболических нарушений при острых отравлениях веществами нейротропного действия // Общая реаниматология. – 2007. – № 5-6. – С. 55-60.
63. Ашмарин И.П., Стукалов П.В. Нейрохимия. – М.: Изд-во Инст. Биомед. химии РАМН, 1996. –
64. Кравцов А.В., Алексеенко И. Р. Механизмы регуляции векторных ферментов биомембран. – Киев: Наукова Думка, 1990. – 176 с.

65. Аксенцев С.Л., Левко А.В. и др. Кальций, освобождаемый из внутриклеточных депо, ингибирует окислительное фосфорилирование митохондрий в синапсосах мозга крыс при ацидозе // Биофизика. – 1998. – Т. 43, Вып. 2. – С. 315-318.
66. Владимиров Ю.А., Коган Э.М. Механизмы нарушения биоэнергетических функций мембран митохондрий при тканевой гипоксии // Кардиология. – 1981. – Т. 21. – С. 82-85.
67. Cavaggioni A. Some aspects of calcium regulation in cell biology // Biosci. Repts. – 1989. – Vol. 9, №4. – P. 421-436.
68. Kelley L.L, Koury M.J. et al. Survival death of individual proerythroid progenitor cells by erythropoietin: effects of calcium and of protein and RNA synthesis // J. Cell. Physiol. – 1992. – Vol. 151, №3. – P. 487-496.
69. Papa S., Skulachev V.P. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging // Mol. Cell. Biochem. – 1997. – Vol.174. – P.305–319.
70. Калинина Е.В., Чернов Н.Н. и др. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2010. – № 3. – С. 46-54.
71. Дубинина Е.Е.//Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. – СПб.:Мед.пресса, – 2006. – С.33-84.
72. Салганик Р.И., Шабалина И.Г. и др. Физико-химические свойства мембран и функциональное состояние митохондрий печени крыс с врожденной способностью к повышенному радикалообразованию // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – № 6. – С. 628-631.
73. Coconi C., Curello S. et al. Effect of lipid peroxidation on heart mitochondria oxygen consuming and calcium transpoting capacities // Mol. and Cell. Biochim. – 1988. – Vol. 81. №2. – P. 131-135.
74. Древаль В.И., Финашин А.В. Влияние перекисного окисления липидов плазматических мембран на активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы // Биофизика. – 1991. – Т. 36, Вып. 5. – С. 799-801.
75. Пожаров В.П., Миняйленко Т.Д. Перекисное окисление липидов в условиях тяжелой гипоксии: возможные механизмы активации // Нурохия Medical. – 1993. – № 3. – С. 13-17.
76. Yoshida S., Abe K., Busto R. et al. Free radical reaction in transient cerebral ischemia: Lipid – soluble antioxidants and free fatty acids // Stroke. – 1982. – Vol. 13, №1. – P. 116.

77. Владимиров Ю. А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // Биофизика. – 1987. – Т. 32, №4. – С. 830-844.
78. Freeman B.A., Crapo J.D. Free radicals and tissue injury // Lab. Invest. – 1982. – Vol. 47. – P. 412-426.
79. Джафаров А.И., Магомедов Н. М. и др. Перекисное окисление липидов в синапсомембранной и митохондриальной фракциях отдельных структур мозга при гипоксии // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1989. – Т. 107, № 3. – С. 305-307.
80. Никушкин Е.В., Сазонтова Т. Г., Бордюков М.М. Последствия некомпенсированной активации процесса перекисного окисления липидов для синаптических мембран // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1994. – Т. 117, №2. – С. 214.
81. Голубев А. М., Москалева Е. Ю. и др. Апоптоз при критических состояниях // Общая реаниматология. – 2006. – II, 5-6
82. Cohen G.M., Sun X.M. et al. Key morphological features of apoptosis may occur in the absence of internucleosomal fragmentation // Biochem. J. – 1992. – Vol. 286 (pt2). – P.331-334
83. Чернобаева Г. Н., Романова В.Е., Лукьянова Л. Д. Принципы коррекции энергосинтезирующей функции дыхательной цепи при биоэнергетической гипоксии // Гипоксия. Механизмы, адаптация, коррекция/Мат. Всерос. конф. – М., 1997. – С. 132.
84. Лукьянова Л.Д. Биохимические основы формирования механизмов адаптации к гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Эколого-физиологич. проблемы адаптации. – М., 1994. – С.161-164.
85. Барсуков С. Ф., Антонов Г.И. и др. Применение олифена в остром периоде цереброваскулярных заболеваний // Антигипоксанта и актопротекторы: итоги и перспективы / Мат. Рос. конф. – СПб., 1994. – Вып. 2. – С. 116.
86. Перепеч Н.Б., Михайлова И.Е. и др. Олифен в терапии ишемической болезни сердца – первые результаты и перспективы клинического применения //Междун. мед. обз. – 1993. – Т. 1, № 4. – С. 328-333.
87. Миловский В.Г., Болдина И. Г. Влияние антигипоксанта олифена на изменения в редокс-системах глутатиона //Антигипоксанта и актопротекторы: итоги и перспективы / Мат. Рос. научн. Конф. – СПб., 1994. – Ч. 1. – С. 67.
88. Лукьянова Л.Д. Митохондриальная дисфункция – типовой патологический процесс, молекулярные механизмы гипоксии // Проблемы гипоксии / Под ред. Л.Д Лукьяновой и И.Б. Ушакова. – М., 2004. – 584 с.

89. Чернобаева Г.Н., Романова В.Е. и др. Антигипоксические эффекты и механизмы действия некоторых производных 3-оксипиридинов // Итоги науки и техники. Сер.: Фармакология. Химиотерапевтические средства. Т. 27. Антигипоксиканты / Под ред. Л.Д. Лукьяновой. – М., 1991. – С. 26-39.

90. Ивницкий Ю.Ю., Головки А.И. и др. Янтарная кислота в системе средств метаболической коррекции функционального состояния и резистентности организма. – СПб., 1998. – 81 с.