

Биохимические основы механизма действия фумарат-содержащих препаратов

Е.И. Маевский^{1,2}, Е.В. Гришина¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино, Московская обл.,

²Межрегиональное общественное учреждение Институт инженерной физики, Серпухов, Московская обл.

Памяти чл.-корр. РАН
С.Е. Селиванова

Аннотация

В обзоре анализируются литературные данные по клиническому применению фумарат-содержащих препаратов, применяемых внутривенно в интенсивной терапии, и материалов собственных исследований по биохимическим превращениям фумарата у животных и человека. Применение высоких доз фумарат-содержащих препаратов в клинике (порядка 30 г при разовом введении) свидетельствует о высокой степени безопасности фумарата натрия. Рассмотрены метаболические превращения фумарата, обеспечивающие в аэробных условиях поддержание уровня глюкозы в крови, полноценное окисление жирных кислот и митохондриально-цитозольный транспорт восстановительных эквивалентов. При кислородном голодании NADH-фумаратредуктазная реакция играет ключевую роль в анаэробном образовании сукцината и в поддержании энергетического статуса митохондрий и клеток. Авторы анализируют не только «топливную» роль фумарата в энергетике клетки, но и участие фумарата в сигнальных реакциях, связанные с активацией сукцинатного рецептора и стабилизацией цитозольного гипоксии-индуцируемого фактора (HIF). Внимание акцентируется на участии NADH-фумаратредуктазной реакции в физиологической адаптации к гипоксии и в гипоксии-подобной «адаптации» новообразований. Постулирована целесообразность использования малых доз фумарата в составе биологически активных добавок.

Ключевые слова: фумарат-содержащие препараты, метаболизм фумарата, аэробные и анаэробные условия, анаэробное образование сукцината, гипоксическая адаптация.

Biochemical basics of fumarate-containing medicines action

E.I. Maevsky^{1,2}, E.V. Grishina¹

¹Institute of theoretical and experimental biophysics of Russian academy of sciences. Pushchino, Moscow region, Russia.

²Institute of Engineering Physics. Serpukhov, Moscow region, Russia.

In memory of E.A. Selivanov

Abstract

The review analyzes literature data on the clinical use of the fumarate-containing medicines injected intravenously in intensive care, and materials of authors' research on the biochemical transformations of fumarate in animals and humans. The use of high doses of the fumarate-containing medicines (about 30 g with a single administration) indicates a high safety of sodium fumarate. Metabolic transformations of fumarate providing under aerobic conditions maintenance of blood glucose level, complete oxidation of fatty acids and mitochondrial-cytosolic transport of reducing equivalents are considered. The NADH fumarate reductase reaction plays a key role in the anaerobic formation of succinate and in maintaining the energy status of mitochondria and cells during hypoxia. The authors analyze not only the "fuel" role of fumarate in the energy of the cell, but also the fumarate participation in signal reactions associated with activation of the succinate receptor and stabilization of the cytosolic hypoxia-inducible factor (HIF). Attention is focused on the participation of the NADH fumarate reductase reaction in physiological adaptation to hypoxia and in hypoxia-like "adaptation" of neoplasms. The feasibility of using small doses of fumarate in the composition of biologically active additives has been postulated.

Key words: fumarate-containing medicines, fumarate metabolism, aerobic and anaerobic conditions, anaerobic succinate formation, hypoxic adaptation

Мобилизация, напряжение и расстройство энергетического обмена характерны для всех видов экстремальных нагрузок и патологических состояний организма. Важным фактором в этиопатогенезе нарушений энергетического обмена при многих критических состояниях является гипоксия [15]. Устранение или ослабление нарушений энергетического обмена при глубоких изменениях гипоксического и ишемического характера может быть достигнуто благодаря своевременному применению антигипоксантов, непосредственно влияющих на окислительно-восстановительные процессы энергетического обмена. Среди них весьма эффективными средствами оказались препараты на основе природных метаболитов, в частности, фумаровой кислоты [36]. Фумарат натрия как легко растворимая соль фумаровой кислоты является основным компонентом таких инфузионных препаратов, как мафусол [26], полиоксифумарин [27, 34] и конфумин. Эти препараты существенно уменьшают такие гипоксические симптомы, как нарушение доставки кислорода, падение энергетического статуса тканей, развитие сердечных аритмий, нарушение диуреза, появление глубокого метаболического ацидоза. После их инфузии наблюдается улучшение гемодинамики, повышение сердечного выброса, минутного объема крови и ряда показателей энергетического метаболизма, уменьшается выраженность окислительного стресса и активируется функционирование митохондрий [35]. Мафусол, полиоксифумарин и конфумин зарекомендовали себя как

высоко эффективные средства в реанимационной практике, при интенсивной терапии тяжелых септических состояниях и после обширных операционных вмешательств [28, 30, 28, 24, 31, 36].

К настоящему времени на фармрынке появилось множество лекарственных средств, действующей субстанцией которых являются не свободная фумаровая кислота или ее соли, а их производные. Многие из таких лекарственных средств были разработаны группой Джоши Р.К., получившей только в России 7 патентов на композиции, включающие разнообразные алкилфумараты, амиды фумаровой кислоты и карбоциклические олигомерные производные в сочетании с солями свободной фумаровой кислоты. Они предназначены для лечения сердечной недостаточности и астмы [10], опосредованных NF-κB заболеваний из группы таких, как прогрессирующая системная склеродермия и др. [9], аутоиммунных заболеваний, реакций "трансплантат против хозяина" – для смягчения или подавления отторжения трансплантата после пересадки органов и клеток [5, 8]. Микропланкетки на основе алкиловых эфиров фумаровой кислоты применяются при лечении псориатического артрита, нейродермита, псориаза и регионального энтерита Крона, сердечной недостаточности, инфаркта и стенокардии [7, 11]. Диметилфумарат предназначен не только для лечения псориаза, но и таких грозных состояний как рассеянный склероз и прогрессирующая ВИЧ инфекция [41,39]. Эти же исследователи обратились к препаратам на основе свободной фумаровой кислоты и ее солей при лечении заболеваний, обусловленных нарушением окислительного фосфорилирования, закономерно включив в группу показаний синдром Паркинсона, болезнь Альцгеймера, хорею Хантингтона, пигментную ретинопатию и митохондриальную энцефалопатию [6]. Широко известно применение фумарата железа в качестве лекарственного средства для лечения анемии в составе фармпрепаратов Ферронат и Хеферол.

Согласно базе данных Роспатента, наряду с лекарственными препаратами, содержащими свободную фумаровую кислоту и ее соли, создано более сотни различных композиций, включающих дополнительно к фумарату другие карбоновые кислоты, аминокислоты, антиоксиданты, подсластители и прочие компоненты в составе биологически активных пищевых добавок, улучшителей алкогольных напитков, умягчителей, дезинфицирующих средств, добавляемых в пищевые продукты, кормовые премиксы для домашнего скота, пушных животных и птиц, в средства защиты растений и повышения их урожайности, для предпосевной обработки семян, и т.п.

Одной из особенностей большинства фумарат-содержащих средств является применение их в необычно высоких дозах. Наряду с тем, что в Энциклопедии «Пищевые

добавки» [23] рекомендуются значительно меньшие, чем в лекарственных препаратах дозы фумаратов натрия (E365), калия (E366), кальция (E367) и аммония (E368), здесь же приводятся примеры приема внутрь 1 г фумарата натрия при лечении псориаза и дается рекомендация вводить в составе кормов до 2% фумаратов.

В подавляющей массе упомянутых исследований по использованию фумаровой кислоты, ее солей и их производных авторы вместо детального анализа механизма действия применяемой субстанции ссылаются на известную роль фумаровой кислоты в энергетическом обмене как интермедиата цикла Кребса [18]. Мы не стремились проанализировать механизмы действия сложных субстратных композиций и различных химических производных фумаровой кислоты. Задачей, решаемая в представленной работе, сводилась к изложению представлений о метаболизме свободной фумаровой кислоты и ее натриевой соли, как наиболее часто используемых субстанций. В работе описаны биохимические основы действия таких лекарственных средств, как мафусол, полиоксифумарин и конфумин, содержащих в качестве основного или по сути единственного метаболизирующего действующего начала фумарата натрия. Представленное рассмотрение построено с позиций анализа традиционных биохимических превращений и менее известных, но хорошо обоснованных сведений, а также некоторых собственных экспериментальных данных о связанных с фумаратом реакциях энергетического обмена в условиях различного кислородного обеспечения.

Итак, мафусол, полиоксифумарин и конфумин как лекарственные формы фумарата натрия применяются в клинической практике при лечении разнообразных патологических состояний, требующих интенсивной терапии: при шоке различной этиологии, кровопотере, перитоните, после тяжелых оперативных вмешательств, в том числе в онкологической практике, но чаще всего в качестве противоишемических и антигипоксических средств. Следует подчеркнуть, что применение вместо свободной фумаровой кислоты ее натриевой соли способствует быстрому проникновению аниона фумарата в кровоток и в ткани, а также облегчает поддержание кислотно-основного состояния крови при развитии метаболического ацидоза. Как уже упоминалось, вводятся весьма значительные дозы фумарата. Так, мафусол, содержащий 110 мМ фумарата натрия в литре, вводят инфузионно внутривенно из расчета $0,4 \div 0,5$ г фумарата на кг массы тела – разовая доза составляет 30 ÷ 35 г. При инфузии мафусола уже через 15-30 мин в случаях лечения геморрагического шока или разлитого перитонита наблюдалось выраженное улучшение состояния реанимационных больных: уменьшались гемодинамические расстройства, аритмия, метаболический ацидоз, снижался уровень продуктов перекисного окисления липидов в крови, улучшалась сократительная функция миокарда. В

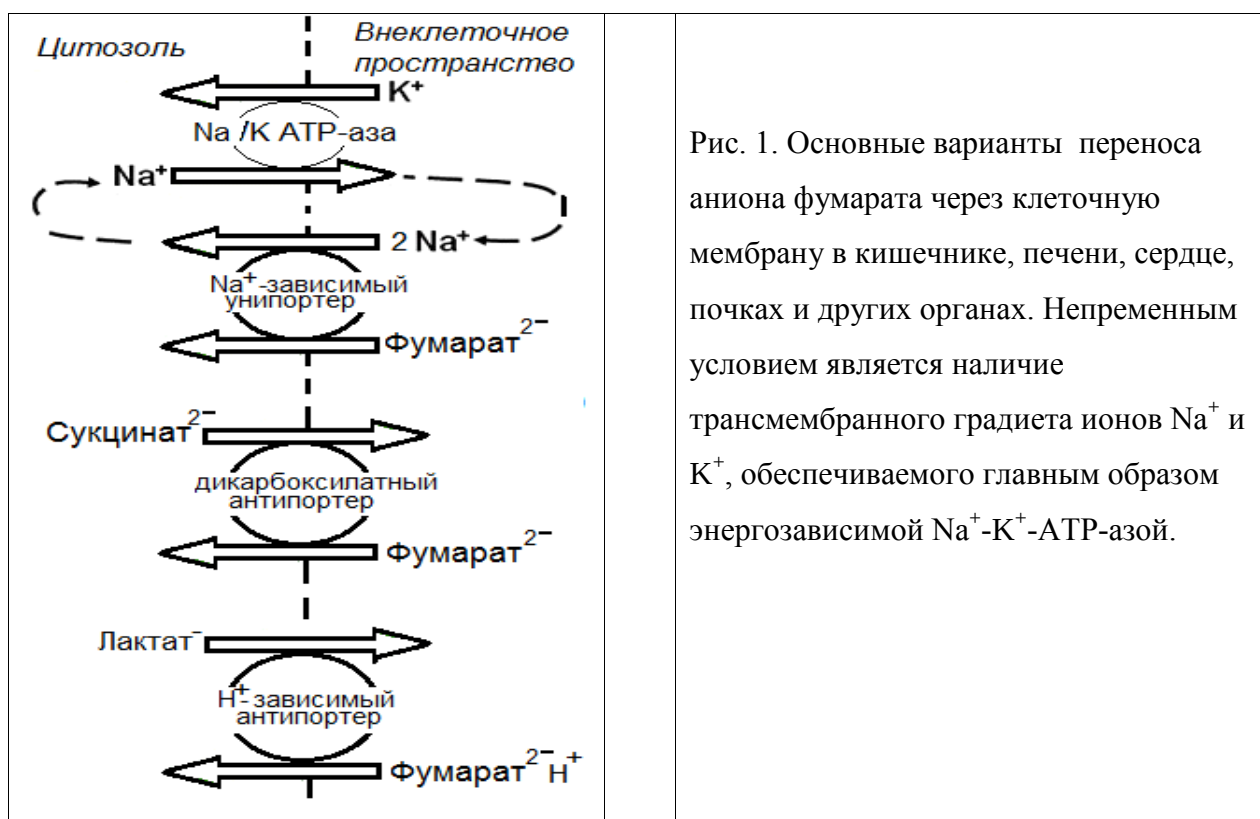
митохондриях печени животных при моделировании подобных состояний введение фумарата натрия способствовало повышению степени сопряжения окислительного фосфорилирования, одновременно тормозилось образование малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов, нормализовался уровень печеночных ферментов в плазме крови [24,36].

Описывая участие фумарата в метаболических превращениях, мы сконцентрировались на энергетическом обмене и рассмотрели направленность метаболических превращений фумарата в зависимости от различий в кислородном обеспечении тканей.

• Анализ метаболизма фумарата при достаточном кислородном обеспечении тканей.

В аэробных условиях фумаровая кислота образуется в результате окисления янтарной кислоты в сукцинатдегидрогеназной реакции и далее с помощью почти равновесной фумаразной реакции превращается в яблочную кислоту [18]. Кроме того, она является побочным продуктом цикла синтеза мочевины. В свободном виде фумаровая кислота встречается только в растениях (см. приложение к статье). В организме животных она присутствует в виде натриевой соли вне клеток и калиевой соли внутри клеток. Фумаровая кислота плохо растворима в воде: не более $0,63 \div 0,72$ г в 100 мл при 25°C. Намного лучше растворяется натриевая соль фумаровой кислоты до 22,8 г в 100 мл. Именно поэтому инъекционные препараты содержат фумарат натрия.

Перенос через клеточную мембрану дикарбоновых кислот, к которым относится фумаровая кислота, зависит от наличия градиента ионов натрий-калиевого градиента на клеточной мембране и источников энергии и осуществляется специальными белками переносчиками [62].



Анион фумаровой кислоты транспортируется через мембрану, как правило, либо в симпорте с ионами натрия (унипортером), либо путем антипорта с анионом угольной кислоты или анионами других органических кислот, например, сукцината, малата, лактата или аспартата. Причем сродство переносчиков к органическим кислотам обычно возрастает при снижении pH. В целом скорость переноса определяется не только концентрацией соответствующего аниона органической кислоты, но и величинами трансмембранного градиента ионов Na⁺ и K⁺, величиной pH и количеством переносчиков [56, 62]. Наличие в инъекционных лекарственных препаратах натриевой соли фумаровой кислоты значительно облегчает проникновение фумарата в ткани, как показано на схеме (рис. 1).

Внутрисосудистое введение фумарат-содержащих препаратов обеспечивает кардинальное улучшение центрального и периферического кровотока и кислородного обеспечения организма за счет ряда факторов: повышения функциональной активности миокарда и уровня глюкозы в крови, активации митохондриального энергообеспечения и уменьшения метаболического ацидоза. Метаболизм фумарата при достаточном кислородном обеспечении тканей поддается анализу в рамках традиционных представлений о месте фумарата в реакциях энергетического обмена митохондрий [18].

Напомним, что в условиях тяжелого стресса и при шоке одним из ведущих патогенетических факторов является **развитие гипогликемии**, связанной с быстрым истощением гликогенных депо печени и локальных запасов гликогена в других органах

после первичного гипергликемического всплеска. **Распад гликогена при стрессе сочетается с мобилизацией липидов**, что обусловлено нейроэндокринной сигнализацией в виде симпатикотонического, катехоламинового и затем глюкокортикоидного напряжения [29, 33]. Стрессовая активация липолиза, с одной стороны, оказывает выраженное позитивное влияние на энергетику организма, так как повышается концентрация триглицеридов и свободных жирных кислот в крови, окисление которых обеспечивает энергетические потребности практически всех тканей, сберегая глюкозу для мозга и эритроцитов. Негативная сторона мобилизации и стимуляции окисления жирных кислот связана со значительным возрастанием уровня NADH в митохондриях (тормозящего окисление множества NAD-зависимых субстратов), повреждением мембран и ряда полиферментных систем избытком свободных жирных кислот и их ацилов-КоА [1, 33]. Происходит избыточное образование и накопление продукта β -окисления жирных кислот ацетил-КоА, дальнейшее окисление которого затруднено. Дело в том, что прирост NADH вызывает быстрое восстановление оксалоацетата до малата, в результате чего ацетил-КоА остается без партнера, необходимого для протекания цитратсинтазной реакции – входа в цикл Кребса. В результате дефицита оксалоацетата избыток ацетил-КоА вместо полноценного окисления в цикле Кребса служит источником кетоновых тел, жирных кислот и холестерина [18, 33].

Дефицит оксалоацетата имеет место даже в физиологических условиях, поскольку стационарная концентрация оксалоацетата в тканях составляет всего $10^{-5} \div 10^{-6}$ М. Это на 2-3 порядка ниже, чем концентрации других интермедиатов энергетического обмена. Образование оксалоацетата поддерживается главным образом за счет карбоксилирования пирувата, образующегося в процессе окисления глюкозы в гликолизе. Однако, сниженная интенсивность гликолиза при гипогликемии и истощении гликогенных депо приводит к дефициту пирувата и, как следствие, к недостатку оксалоацетата. Лимит по оксалоацетату ограничивает не только вход ацетил-КоА в цикл Кребса – основного поставщика восстановительных эквивалентов в дыхательную цепь митохондрий, где происходит окислительное фосфорилирование АТФ, но и течение других важных адаптивных реакции.

Массивное введение в такой ситуации экзогенного фумарата выполняет роль дополнительного источника оксалоацетата (рис.2).

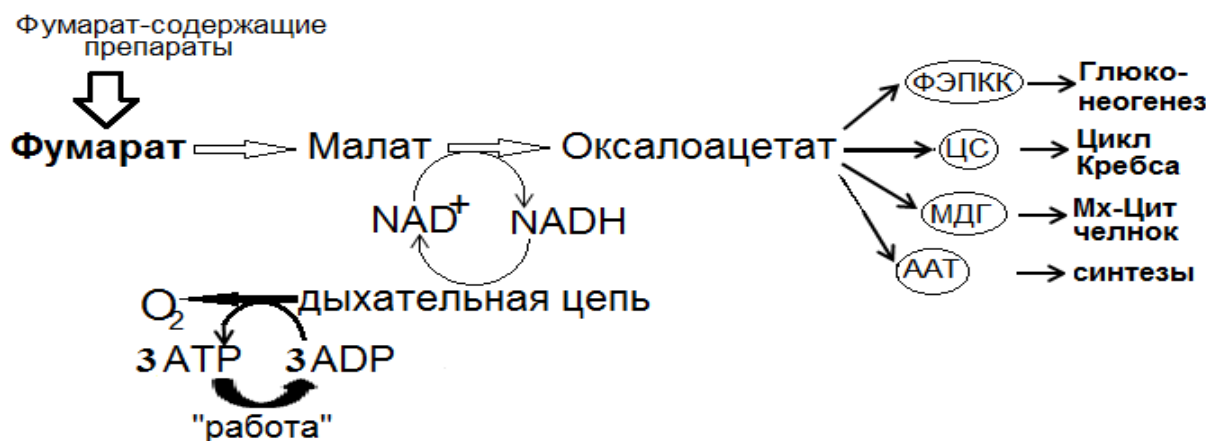
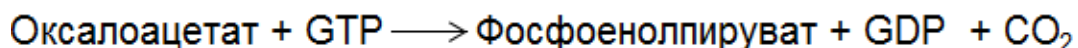


Рис. 2 Схема входа экзогенного фумарата в традиционно описываемый Цикл Кребса. В аэробных условиях фумарат благодаря фумаразной реакции превращается в малат, окисление которого до оксалоацетата поставляет восстановительные эквиваленты в дыхательную цепь, где в реакциях окислительного фосфорилирования происходит ресинтез АТФ из АДФ (термин «работа» в обобщенном виде представляет все энергозависимые процессы). Образующийся оксалоацетат позволяет обеспечить течение цитратсинтазной (ЦС), фосфоенолпируваткарбоксикиназной (ФЭПКК), малатдегидрогеназной (МДГ) и аспартатаминотрансферазной (ААТ) реакций. Соответственно обеспечиваются условия для запуска цикла Кребса, глюконеогенеза, митохондриально-цитозольного малат-аспартатного челнока по переносу восстановительных эквивалентов в цитозоль и вовлечения аспартата в биосинтетические процессы.

Как показано на рис 2, восполнение дефицитного пула оксалоацетата позволяет запустить цитратсинтазную (ЦС), фосфоенопируваткарбоксикиназную (ФЭПКК), малатдегидрогеназную (МДГ) и аспартатаминотрансферазную (ААТ) реакции, необходимые для течения указанных на схеме процессов. Обозначенные четыре фермента конкурируют за оксалоацетат. Они имеют практически равно высокое сродство к нему: K_m порядка $10^{-5}M$. Именно поэтому дополнительный приток оксалоацетата, обеспечиваемый за счет экзогенного фумарата, играет важную роль в поддержании этих взаимосвязанных метаболических превращений.

В ЦС реакции ацетил-КоА (избыточно образованный при мобилизации жирных кислот) получает возможность войти в цикл Кребса, в котором происходит декарбоксилирование до CO_2 и дегидрирование, то есть поставка водорода для дыхательной цепи. Следовательно, обеспечивается синтез АТФ в реакциях окислительного фосфорилирования.

При стрессе выброс адреналина и позже глюкокортикоидов способствуют экспрессии синтеза ферментов глюконеогенеза, лимитируемого, в частности ФЕПМК-реакцией, которая в свою очередь обычно ограничена уровнем оксалоацетата. Образование при поступлении экзогенного фумарата достаточного количества оксалоацетата обеспечивает обход необратимой пируваткиназной реакции за счет ФЕПМК-реакции:



Необходимый для глюконеогенеза фосфоенолпируват может образовываться не только в цитозоле [18], но и в митохондриях. У человека, морских свинок, птиц, кроликов, в отличие от крыс и мышей, имеется достаточно активная митохондриальная ФЕПМК. Образованию фосфоенолпирувата в цитозоле способствует функционирование малат-аспаратного челнока. Челнок выводит из митохондрий малат, образовавшийся за счет восстановления части оксалоацетата в МДГ реакции (равновесие в МДГ смещено в сторону восстановления до малата). Вышедший в цитозоль малат окисляется до оксалоацетата, который вовлекается в ФЕПМК реакцию. Дополнительное количество цитозольной ФЕПМК индуцируется под влиянием ряда гормонов: глюкагона, адреналина и глюкокортикоидов. Обеспечение субстратом и активация ФЕПМК реакции - ключевого звена глюконеогенеза - способствует ликвидации гипогликемии.

Итак, благодаря поступлению экзогенного фумарата осуществляется субстратная поддержка ЦС и ФЕПМК и создаются благоприятные условия для полноценного окисления в цикле Кребса избытка ацетил-КоА, образованного из мобилизованных свободных жирных кислот, активации глюконеогенеза и, следовательно, для ликвидации гипогликемии и кетоацидоза. Таким образом, внутривенная инфузия фумарата натрия в аэробных условиях способствует улучшению энергетики тканей и уменьшению кетоновой составляющей метаболического ацидоза.

- **Анализ метаболизма фумарата при анаэробии и гипоксии.**

Участие фумарата в энергетическом обмене при дефиците кислорода не может быть рассмотрено в рамках только традиционных представлений об энергетическом обмене. Есть веские основания считать, что антигипоксический эффект фумарат-содержащих препаратов связан с участием фумарата в реакциях анаэробного образования сукцината (АОС) при обращении цикла Кребса

Но прежде, чем обратиться к анализу этого анаэробного процесса, вспомним, что разные ткани и их отдельные участки, клетки и митохондрии находятся существенно в

различных условиях кислородного обеспечения даже при нормоксии. При насыщении артериальной крови кислородом на уровне 98% средняя величина тканевого pO_2 не превышает в разных тканях $10\div 30$ мм рт. ст.. Соответственно в примитохондриальном пространстве величина pO_2 составляет не более $1\div 25$ мм рт. ст. Иными словами, величины pO_2 в разных клетках и митохондриях чрезвычайно гетерогенны. Они зависят от диффузионного расстояния для кислорода между капиллярами – источниками кислорода – и клетками, митохондриями – его потребителями [4, 12]. Это расстояние в свою очередь зависит от числа открытых, задействованных в кровотоке капилляров. Количество функционирующих капилляров определяется напором крови, так как в стенках капилляров отсутствуют сократительный и эластичный слои. Их просвет изменяется в зависимости от кровенаполнения, объема циркулирующей крови, величины артериального давления, тонуса артериол и величины венозного сброса [32]. В результате периодического запустевания ряда капилляров и увеличения диффузионного расстояния для кислорода часть клеток в физиологических условиях и, тем более, при нарушении кровотока, уменьшении объема циркулирующей крови, падении гидродинамического давления крови находится в условиях преходящей гипоксии, ишемии, вплоть до анаэробноза. Именно поэтому целесообразно рассмотрение метаболической роли фумарата в анаэробных состояниях.

К настоящему времени накопилось множество свидетельств важной роли фумаратредуктазной реакции в энергетическом обеспечении различных видов облигатных и факультативных анаэробов от микроорганизмов и паразитирующих гельминтов до высших животных и человека [37, 38, 65, 42, 45, 46, 47, 48, 49, 66, 72, 73, 74]. Схематически окислительно-восстановительные превращения, раскрывающие роль фумаратредуктазы при переходе от аэробных к анаэробным условиям представлены на рис.3.

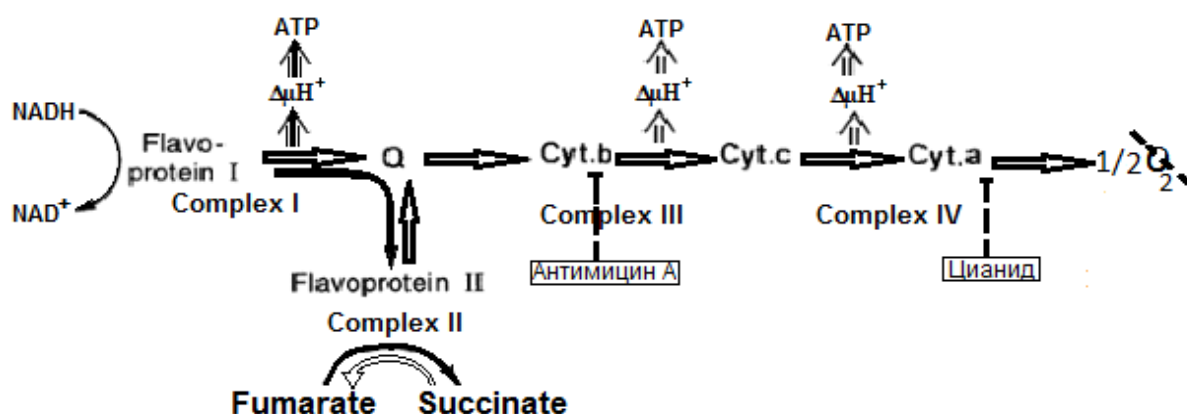


Рис. 3. В аэробных условиях конечным акцептором электронов является кислород (поток восстановительных эквивалентов в дыхательной цепи изображен не заштрихованными светлыми стрелками). В анаэробных условиях конечным акцептором водорода служит фумарат (сплошные стрелки). При выключении комплексов III и IV в дыхательной цепи (анаэробные условия, или ингибиторы – Антимycin A, Цианид, пунктирные линии) окислительное фосфорилирование сохраняется только на уровне комплекса I, функционирование которого обеспечивает окисление Коэнзима-Q благодаря фумаратредуктазной реакции, осуществляемой комплексом II. В целом идет NADH-фумаратредуктазная реакция.

Наиболее полно изучено восстановительное обращение цикла Кребса от оксалоацетата или малата [50], связанное с протеканием NADH-фумаратредуктазной реакции, завершающейся образованием сукцината [65, 71, 74. Реализуемость этих превращений на уровне перфузируемой в гипоксических условиях печени показана по включению изотопной метки из фумарата в сукцинат [45].

С помощью метода Н-ЯМР спектроскопии [60] мы проверили эту схему в эксперименте на изолированных митохондриях сердца, печени, мозга и коркового слоя крыс [17]. Оказалось, что NADH-фумаратредуктазная реакция (рис.3) в изолированных митохондриях при остановке дыхательной не реализуема, если к суспензии митохондрий добавлен только фумарат (5 мМ). Требовалось подобрать условия, которые обеспечивали бы *in vitro* поток восстановительных эквивалентов на NAD и способствовали бы прохождению NADH-фумаратредуктазной реакции. Последняя в свою очередь тесно связана с использованием трансмембранного потенциала ионов водорода на уровне комплекса I, например, для синтеза АТФ (рис. 3). Нами экспериментально были промоделированы эти ключевые условия. При этом превращения субстратов рассчитывали по динамике спектров ^1H -ЯМР, изменение концентрации АТР отношения АТР/АДР измеряли по спектрам ^{31}P -ЯМР или энзиматически [17]. Поток восстановительных эквивалентов для поддержания высокой степени восстановленности NADH был создан за счет окисления добавленных NAD-зависимых субстратов. Кроме того, NADH-фумаратредуктазная реакция протекала не изолировано, а в ходе обращения реакций цикла Кребса от оксалоацетата до фумарата и далее до сукцината. Для поддержания протока в реакциях окислительного фосфорилирования на уровне комплекса I, в соответствии с требованиями концепции дыхательного контроля, в среду инкубации вносили ADP и неорганический фосфат. Оптимальными для анаэробного образования сукцината (АОС) были условия, позволяющие реализоваться восстановительному

обращению, сопряженному с прямым потоком реакций в цикле Кребса. Это достигалось путем внесения в среду инкубации малата с α -кетоглутаратом или аспартата с α -кетоглутаратом согласно приведенной схеме (рис. 4).

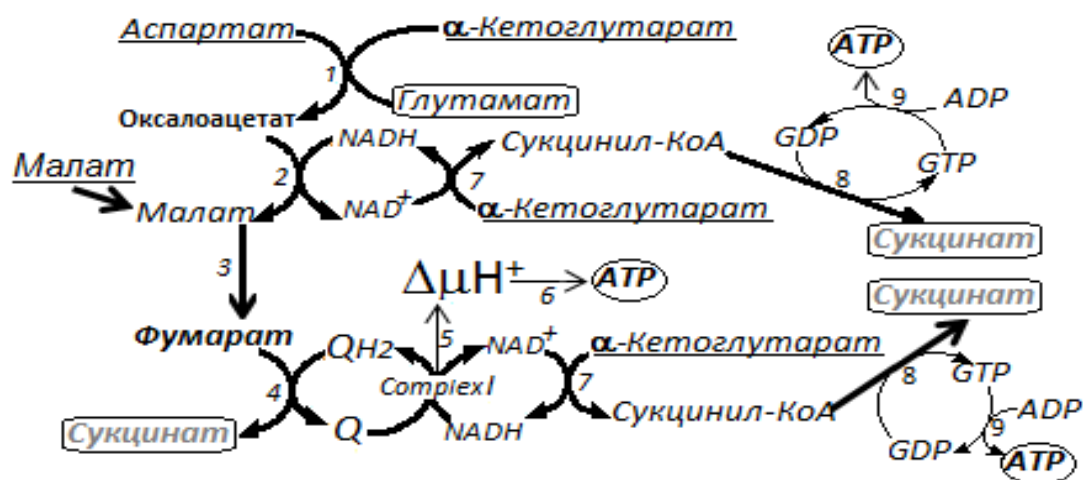


Рис. 4 Схема анаэробного образования сукцината в митохондриях из малата с α -кетоглутаратом или аспартата с α -кетоглутаратом и запуском окислительного и субстратного фосфорилирования путем внесения ADP. Обозначения: 1 – аминотрансфераза, 2- малатдегидрогеназа, 3 – фумараза, 4 – сукцинатдегидрогеназа в роли фумаратредуктазы, 5 – генерация трансмембранного потенциала на уровне комплекса I дыхательной сети, 6 – АТФ-синтаза, 7 - α -кетоглутаратдегидрогеназа, 8 - сукцинилтиокиназа, 9 - нуклеозиддифосфокиназа. Названия субстратов – исходных источников подчеркнуты, конечные продукты заключены в рамки.

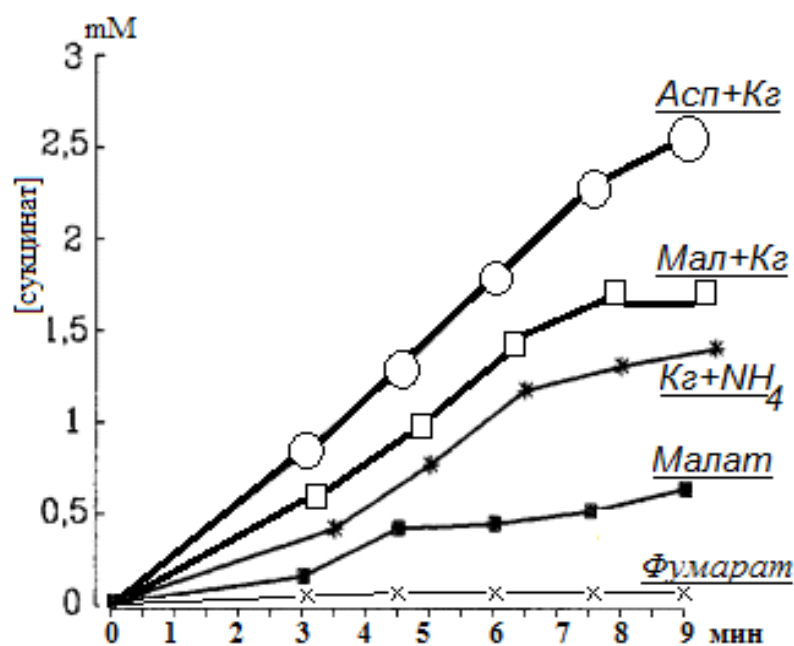


Рис. 5. Экспериментально зарегистрированная кинетика накопления сукцината при использовании различных интермедиатов - источников АОС в присутствии антимицина А (0,4 мкг на мг белка митохондрий), блокирующего перенос восстановительных эквивалентов по дыхательной цепи на уровне комплекса III. Концентрации всех добавленных субстратов – источников по 5 мМ. Малат добавлялся вместе с 1 мМ пирувата. Концентрацию образующегося сукцината и расход добавленных интермедиатов рассчитывали по спектрам ^1H -ЯМР. Концентрация NH_4Cl – 2,5 мМ. Концентрация митохондрий печени - 15-18 мг белка в мл, $t = 26^\circ\text{C}$. Каждая кривая построена по результатам четырех экспериментов, выполненных на митохондриях печени крыс линии Wistar, (при коэффициенте вариации $\text{SD}/\bar{X} \times 100\%$ не более 25%). Цифровые данные взяты из [17].

Как показано, на рис. 5, динамика прироста концентрации сукцината при остановленной антимицином А дыхательной цепи в суспензии митохондрий печени крысы зависела от вида субстратной композиции – источника сукцината. Наибольшее нарастание концентрации сукцината наблюдалось при реализации метаболических превращений согласно схеме, приведенной на рис. 4: при сочетании анаэробного обращения цикла Кребса и поддерживаемого им окисления α -кетоглутарата. Подобная же динамика приращения сукцината в анаэробных условиях была зарегистрирована при использовании в качестве объекта митохондрий сердца, коркового слоя почек или головного мозга крыс.

III Роль NADH-фумаратредуктазной реакции как условие анаэробного образования сукцината (АОС).

Таким образом, для протекания NADH-фумаратредуктазного превращения при остановленной дыхательной цепи в изолированных митохондриях *in vitro* достаточно промоделировать ряд условий субстратного окружения *in vivo*. В связи с этим еще раз поясним некоторые детали эксперимента, результаты которого изображены на рис.5. Внесенный в среду малат с небольшой добавкой пирувата эффективно поддерживает АОС. При этом малат вовлекается в дисмутацию: часть малата окисляется до оксалоацетата, повышая степень восстановленности NADH, другая часть малата превращается в фумарат. Образовавшийся оксалоацетат убирается в ЦС реакции с ацетил-КоА, образующимся при окислении пирувата (на схеме 4 не показано). За счет восстановительных эквивалентов, поступающих с первого комплекса дыхательной цепи, фумарат восстанавливается в NADH-фумаратредуктазной реакции до сукцината.

Далее все ясно из схемы на рис.4. Наиболее удачно условия *in vivo* удалось промоделировать с помощью субстратных смесей: малат + α -кетоглутарат и аспартат + α -кетоглутарат. При этом организуется поток восстановительных эквивалентов, необходимых для обращения цикла Кребса и протекания NADH-фумаратредуктазной реакции. Фумарат-редуктазную реакцию у высших организмов осуществляет сукцинатдегидрогеназа - второй комплекс дыхательной цепи, непосредственно окисляющий восстановленный коэнзим-Q и, тем самым, поддерживающий проток восстановительных эквивалентов и генерацию трансмембранного потенциала ионов водорода, что может обеспечивать фосфорилирование АТР на уровне комплекса I (рис.3), несмотря на отсутствие кислорода и бездействие двух других комплексов дыхательной цепи. Однако, как видно из данных, приведенных на рис 6, ни один из путей АОС не смог полностью предотвратить снижение уровня АТР в суспензии митохондрий с закрытой антимицином А дыхательной цепью (моделирование условий анаэробноза). Исходя из расчета концентраций АТР по спектрам ^{31}P -ЯМР, можно заключить, что наиболее полно поддерживается [АТР] в суспензии митохондрий в присутствии одновременно олигомицина и карбоксиатрактилазида - ингибиторов Н-АТРазы и аденилаттранслоказы, соответственно, препятствующих расщеплению добавленного немитохондриального АТР.

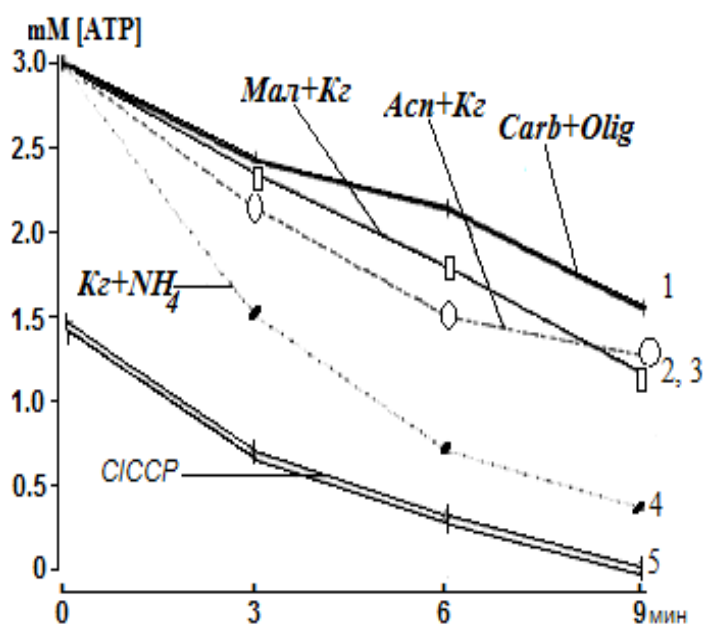


Рис. 6 Динамика концентрации АТР при остановленной дыхательной цепи в присутствии смесей интермедиатов: малат + α -кетоглутарат или аспартат + α -кетоглутарат (кривые 2, 3), при одновременном ингибировании Н-АТФ-азы и аденилаттранслоказы (1), а также при разобщении окислительного фосфорилирования (5). Кривая 4 –

поддержание уровня АТР за счет субстратного фосфорилирования в процессе анаэробной дисмутации α -кетоглутарата по Кребсу-Коэну. Концентрация АТР рассчитана по ^{31}P -ЯМР-спектрам. Обозначения: *Asn+K α* - аспарат с α -кетоглутаратом, *Mal+K α* – малат с α -кетоглутаратом, *K α +NH $_4$* - α -кетоглутарат с аммонием, *Малат* – малат, *ClCCP* – протонофор, разобщающий окислительное фосфорилирования, *Carb+Olig* – карбоксиатрактилазид (ингибитор аденилаттранслоказы) и олигомицин (ингибитор субъединицы F $_0$ - субъединицы Н-АТФ-азы). Каждый ингибитор использовали в концентрации 10^{-5}M . Концентрация добавленного АТР - 3 мМ, NH_4Cl – 2,5 мМ, малата, аспарата, α -кетоглутарата по 5 мМ, NH_4Cl - 2,5 мМ, антимицина А карбоксиатрактилазида по 10^{-5}M . Концентрация митохондрий печени 15-17 мг белка в мл. Уровень регистрируемой концентрации АТР через 6-9 мин в случае анаэробной дисмутации α -кетоглутарата значительно ниже, чем при использовании других субстратных композиций ($p < 0,05$). (Цифровой материал взят из [17]).

Приведенные на рис.6 данные свидетельствует о том, что образование некоторого количества АТР в процессе АОС способно лишь затормозить расщепление экзогенного АТР. Причем более эффективным оказалось одновременное прохождение окислительного фосфорилирования на уровне комплекса I дыхательной цепи и субстратного фосфорилирования на уровне сукцинилтиокиназы. Существенно слабее энергетическая мощность отдельно протекающего субстратного фосфорилирования (кривая 4 на рис.5) при анаэробной дисмутации α -кетоглутарата в присутствии аммония по Кребсу-Коэну [53] (схема на рис7).

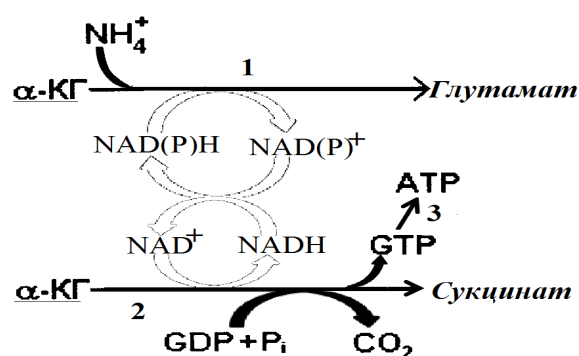


Рис. 7. Анаэробная дисмутация α -кетоглутарата (α -КГ). В глутаматдегидрогеназной реакции (1) идет восстановительное аминирование α -кетоглутарата до глутамата, связывая аммоний и окисляя NAD(P)H до NAD(P)^+ . Появление окисленного NAD^+ способствует окислительному декарбоксилированию другой молекулы α -кетоглутарата в α -кетоглутаратдегидрогеназной реакцию до сукцинил-КоА, который в сукцинилтиокиназной реакции обеспечивает субстратное фосфорилирование GDP до GTP

(на схеме α -кетоглутаратдегидрогеназная и сукцинилтиокиназная реакции объединены под индексом 2). В нуклеозиддифосфокиназной реакции (3) богатый энергией фосфат переносится с GTP на АТР.

В связи с акцентированием внимания на NADH-фумаратредуктазной реакции следует отметить, что в замкнутой системе по мере увеличения длительности анаэробноза значимость этой реакции снижается. Это легко определить по расчетам превращений интермедиатов на основе полученных спектров ^1H -ЯМР [17]. Оказалось, что при использовании описанных субстратных смесей в суспензии изолированных митохондрий имеет место чередование путей АОС. Сначала преимущественно протекает обращение цикла Кребса от оксалоацетата до сукцината, в котором, естественно, NADH-фумаратредуктазная реакция является основным энергетическим источником. Затем имеет место сопряженное течение обращения цикла до сукцината и окисления α -кетоглутарата до сукцината. На этом участке времени богатые энергией соединения воспроизводятся за счет NADH-фумаратредуктазной реакции и субстратного фосфорилирования на уровне сукцинилтиокиназы. И наконец последней на первый план выходит анаэробная дисмутация α -кетоглутарата, наименее энергетически эффективный процесс. При пересчете на количество образующего сукцината выяснилось, что восстановительное обращение цикла Кребса при относительно малой скорости АОС имеет наиболее высокую энергетическую эффективность, обеспечиваемую NADH-фумаратредуктазной реакцией. Более мощное течение АОС из пары интермедиатов α -кетоглутарат + аспартат обеспечивает наиболее высокий суммарный энергетический выход в единицу времени. Анаэробная дисмутация α -кетоглутарата, по крайней мере в митохондриях печени, энергетически мало эффективна.

Судя по полученным данным, собственные энергетические потребности митохондрий при остановленной дыхательной цепи не могут восполняться в полной мере за счет даже сочетанного прохождения (см. схему на рис. 4) субстратного и окислительного фосфорилирования, которое идет на уровне только одного комплекса I. В таких условиях за 9 минут дефосфорилируется 60% добавленного АТР, при сольном функционировании только субстратного фосфорилирования – дисмутация α -кетоглутарата в присутствии аммония - содержание АТР снижается в 7 раз. После одновременного блокирования аденилатного переносчика и H-АТР-азы за 9 минут инкубации уровень АТР уменьшается всего на 50%.

Очевидно, из-за малой и кратковременной энергетической эффективности АОС далеко не во всех исследованиях, выполненных на отключенных от кровотока органах на

длительный период до 30-60 мин, удавалось обнаружить сколько-нибудь заметное улучшение энергетического статуса тканей. Однако в ряде работ доказано существенное поддержание тканевого уровня АТР при участии АОС в течение первых 10-15 минут, например, в остановленном при кардиopleгии сердце и в отключенной от кровотока почке. Высокую энергетическую эффективность АОС после предкардиopleгической перфузии сердца составом с глутаматом показала группа О.И. Писаренко и др. [19, 20, 21, 60, 61]. В условиях тепловой ишемии установлено, что для ткани почки, предназначенной для трансплантации, лучший энергетический выход обеспечивало наличие АОС, поддерживаемого субстратной смесью аспартата с α -кетоглутаратом [43], что находится в хорошем соответствии с приведенными нашими данными *in vitro*. При сравнении различных субстратных композиций на остановленном сердце обнаружено, что сохранение энергетического статуса миокарда в течение 10 мин и последующее восстановление сократительной функции обеспечивает наилучшим образом АОС, запускаемое малатом [67].

Следует признать, что оценка метаболических превращений и энергетической эффективности анаэробного образования сукцината при ЯМР-регистрации не может быть достаточно детальной, так как приходится регистрировать спектры с интервалом 3 мин, необходимым для накопления сигнала. Следовательно, получается не просто дискретное, но несколько смазанное представление о кинетике процесса. И, главное, при полностью закрытой дыхательной цепи нет возможности оценить и представить роль образующегося сукцината в энергообеспечении митохондрий в условиях гипоксии. В гипоксических условиях в значительной мере блокирован комплекс I вследствие высокой степени восстановленности NADH, и поэтому именно образующийся (по схеме АОС) эндогенный сукцинат имеет преимущественную возможность окисляться до фумарата. В некоем приближении такую ситуацию можно промоделировать в присутствии ингибитора первого комплекса дыхательной цепи ротенона (схеме представлена на рис. 8).

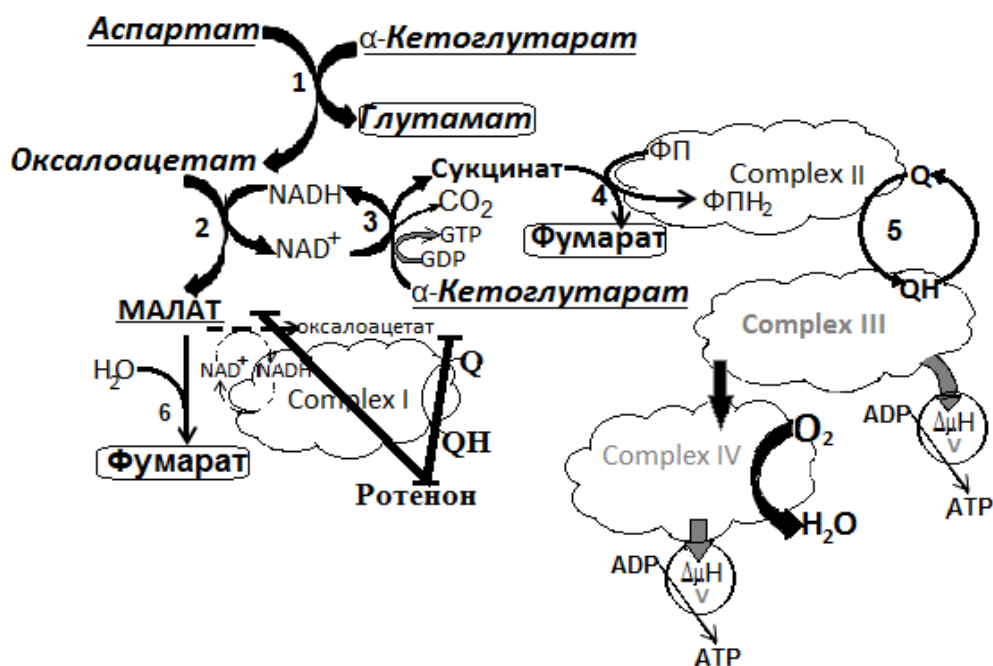


Рис. 8. Схема образования и окисления сукцината в присутствии ротенона - при закрытом для окисления NAD-зависимых субстратов первом комплексе дыхательной цепи. Сукцинат образуется в присутствии ротенона из α -кетоглутарата в результате окислительного декарбоксилирования (3), поддерживаемого за счет окисленного NAD⁺, генерируемого при восстановительном обращении цикла Кребса до малата из оксалоацетата (2), который в свою очередь образуется при трансаминировании (1) аспартата и α -кетоглутарата. Окисление сукцината до фумарата (4) поставляет восстановительные эквиваленты через комплекс II и коэнзим-Q (5) в дыхательную цепь на комплекс III и затем через комплекс IV на кислород. При этом происходит как минимум дважды генерация трансмембранного потенциала μH^+ , используемого комплексом V для синтеза АТФ. Фумарат, образующийся в фумаразной (6) и в сукцинатдегидрогеназной (4) реакциях, не может выполнять роль акцептора водорода в NADH-фумаратредуктазная реакция из-за ротенонового блока, так как между первым и вторым комплексами связующим звеном является Коэнзим-Q, а ротенон блокирует перенос восстановительных эквивалентов с первого комплекса на Коэнзим-Q.

Таким образом, когда вследствие гипоксии имеется возможность для протекания NADH-фумаратредуктазной реакции, то образующийся сукцинат через комплекс II поставляет поток восстановительных эквивалентов в дыхательную цепь, обеспечивая генерацию трансмембранного потенциала ионов водорода в ее терминальной части и течение окислительного фосфорилирования. Эксперимент, поставленный согласно схеме на рис. 8, демонстрирует такую возможность (рис.9) (по данным [17]).

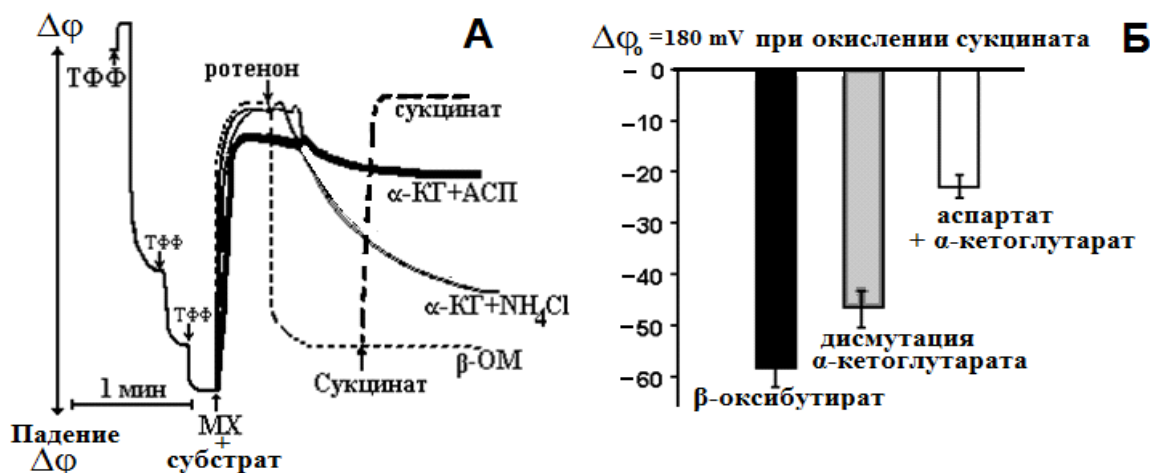


Рис. 9. Изменение величины трансмембранного потенциала в митохондриях печени крысы в присутствии 10^{-4}M ротенона (рис А) при окислении β -оксибутирата, α -кетоглутарата в присутствии аммония или при одновременном внесении в инкубационную среду α -кетоглутарата и аспартата. Указанные субстраты добавлены по 5 мМ до внесения в среду митохондрий. Ротенон добавляли после выхода на плато. Сукцинат (5мМ) добавляли на фоне торможения ротеноном окисления β -оксибутирата. Кинетику регистрировали отдельно с каждой субстратной композицией. На рисунке А три кривые совмещены для удобства сравнения. Как видно из величин отброса тока после одинаковых добавок тетрафенилфосфония (ТФФ), показания ТФФ-чувствительного электрода не линейны (примерно полулогарифмическая шкала). На рис. Б в абсолютных единицах обычной шкалы показано рассчитанное по данным, приведенным на рис А, уменьшение величин трансмембранного потенциала. Концентрация митохондрий - 3 мг белка в мл, объем ячейки 1 мл, t 26°C.

Подобная ситуация – наличие возможности для окисления сукцината при гипоксии, наряду со значительным повышением степени восстановленности NADH с соответствующим резким торможением окисления NAD-зависимых субстратов – описывалась неоднократно [13, 15,16]. Это явление в более мягких условиях на изолированных митохондриях сердца кролика наблюдал Von Korff R.W. [57, 52] в случаях роста степени восстановленности NADH при смене метаболических состояний или при хранении митохондриальной суспензии в толстом слое без перемешивания. При этом по распределению радиоактивной метки наблюдалось превращение NAD-зависимых субстратов в сукцинат и его накопление. Напротив, в случае аэрации в первую очередь происходила убыль сукцината. На уровне ткани печени животных, находившихся в

условиях острой 30 минутной гипоксической гипоксии, было обнаружено 40% снижение концентрации эндогенного сукцината [16].

В процессе Н-ЯМР регистрации спектров в суспензии не отмытых от эндогенных субстратов митохондрий, помещенных в узкую закрытую кювету ЯМР-спектрометра без перемешивания, быстро нарастал пик, характеризующий накопление сукцината. Стоило встряхнуть кювету, добавив тем самым кислорода в среду, как сукцинатный пик исчезал и в спектре обнаруживались пики фумарата. Продолжение инкубации без перемешивания вновь сопровождалось появлением большого сукцинатного пика.

Можно полагать, что не только *in vitro* в гипоксических условиях или при чередовании гипоксических и аноксических состояний имеет место сукцинат-фумаратный цикл, в котором NADH-фумараредуктазная реакция обеспечивает АОС и накопление сукцината в отсутствии протока в дыхательной цепи. Тогда как появление возможности функционирования комплексов III и IV дает путь для сукцинатдегидрогеназы (комплекс II), окисляющей сукцината до фумарата. Своеобразный сукцинат-фумаратный цикл был зафиксирован на уровне целого организма между легкими и периферическими тканями [40]. Можно предположить, что сукцинат-фумаратный цикл реализуется в пределах клетки между митохондриями, расположенными в разных по кислородному обеспечению компартментах, или в пределах одной ткани между клетками, находящимися на разном удалении от капилляров при существенно разном pO_2 вплоть до локальной аноксии. Такое кооперирование метаболических превращений при резко выраженной гетерогенности тканевого pO_2 может поддерживать жизнеспособность клеток за счет совместного течения гликолиза и АОС из фумарата в тех клетках, которые переживают в анаэробных условиях, и одновременно поддерживать энергетику в участках гипоксии, где поступающих из анаэробных локусов сукцинат может окисляться до фумарата. Естественно, в таких ситуациях дополнительное поступление извне экзогенного фумарата выполняет роль остро необходимого энергопротектора.

Дополнительный запуск NADH-фумараредуктазной реакции за счет поступления внешнего фумарата важен особенно для процесса выхода из кислород-дефицитных состояний. Окисление накопленного вследствие АОС из фумарата сукцината при восстановлении нормоксических условий способствует ускорению восполнения постгипоксического энергетического дефицита, как это неоднократно было показано в эксперименте и в клинике при реанимационном использовании упоминавшихся фумарат-содержащих препаратов, а далее идут процессы, поддерживаемые аэробными превращениями фумарата (см. раздел I настоящей статьи).

Следовательно, в анаэробных условиях интермедиаты цикла Кребса буквально стекают в сукцинат при интенсивном функционировании NADH-фумаратредуктазной реакции. Но при этом сукцинат имеет возможность окисляться. Описанные анаэробное и гипоксическое образование и окисление сукцината в митохондриях и фумарат-сукцинатный цикл в клетках и тканях животных является, по-видимому, сохранившимися в процессе эволюции адаптивными процессами, позволяющими приспосабливаться к эпизодам гипоксии и аноксии. Течение реакций образования сукцината при кислородном дефиците препятствует быстрой дезэнергизации митохондрий и обеспечивает активное функционирование огромного числа ферментных систем митохондрий, что является непременным условием для предотвращения деградации митохондрий [14]. И, как уже упоминалось, особое значение может иметь поступление дополнительных количеств фумарата в кислороддефицитных условиях при выходе из них - в период восстановления кислородного обеспечения тканей. Следовательно, поступление экзогенного фумарата может играть решающую роль в эффективном поддержании энергетического обмена тканей в различных условиях кислородного обеспечения.

IV Возможное влияние фумарата на регуляторные процессы как следствие анаэробного образования сукцината.

Представленный анализ не может быть достаточным без упоминания о сигнальной роли сукцината, который в кислород-дефицитных условиях является продуктом NADH-фумаратредуктазной реакции и накапливаться при аноксии. За последние годы представления о физиологической роли сукцината претерпели колоссальные изменения. Оказалось, что многие интермедиаты энергетического обмена являются не только топливом, но и могут выполнять сигнальную роль [39]. И особенно это касается сукцината. О возможной сигнальной роли молекулы сукцината неоднократно упоминалось в работах прошлого века [51, 55]. Однако реальный прорыв сделало открытие лигандной роли сукцината в отношении экс-орфанового рецептора QPR91 [44], называемого ныне сукцинатным рецептором SUCNR1. Следует подчеркнуть, что повышение содержания немитохондриального сукцината не является атрибутом только NADH-фумаратредуктазной реакции, но и происходит помимо АОС. Прирост образования сукцината может быть результатом множества гидроксилазных реакций и торможения его окисления вследствие изменения функционального состояния митохондрий или генетических дефектов отдельных субъединиц сукцинатдегидрогеназного комплекса. При повышении концентрации внеклеточного сукцината выше 10^{-4} моля происходит активация SUCNR1 рецепторов,

сопровождающаяся приростом концентрации ионов Ca^{2+} - одного из самых универсальных внутриклеточных мессенджеров. Последнее приводит к запуску ряда специфических функций клеток, не рассматриваемых в настоящей работе. Оказалось, что сукцинатные рецепторы имеют чрезвычайно широкое распространение. Ими оснащены клетки эндотелия сосудов, особенно в сигнальных зонах сонных артерий и юктагломерулярного аппарата почек, кардиомиоциты, гепатоциты, макрофаги, клетки гипоталамуса, жировой ткани, печени, кишечника, селезенки, тромбоциты, нейроны сетчатки и другие. Вышеупомянутые физиологические эффекты, оказываемые фумарат-содержащими препаратами, могут быть непосредственно обусловлены повышением концентраций сукцината, образующегося в NADH-фумаратредуктазной реакции, и результатом активации сукцинатных рецепторов. К таким эффектам можно отнести, как минимум, выраженное кардитоническое и антиаритмическое действие, вероятность повышения артериального давления и активации экспрессии факторов ангиогенеза, стимуляцию диуреза. Именно в связи с активацией АОС полагают, что SUCNR1-рецепторы являются своеобразными сенсорами ишемических и гипоксических состояний [39]. Но следует помнить, что это довольно грубые сенсоры, так как для их активации требуется повышение концентрации сукцината в крови практически на порядок.

Весьма важным и революционным оказалось открытие стабилизирующего действия немитохондриального сукцината на цитозольно-ядерный транскрипционный гипоксии-индуцируемый фактор (HIF) [см. обзор 54]. При возрастании концентрации сукцината до 10^{-4} М происходит торможение пролингидроксилазной реакции, являющейся ключевым пунктом запуска распада HIF1 α . Торможение пролингидроксилазной реакции может происходить по ряду причин. Среди них основные - это снижение парциального давления кислорода и прирост концентрации сукцината, то есть условия ишемии. В результате того, что HIF-1 α не подвергается кислород-зависимому гидроксированию, он образует активный димер с другим стабильным мономером HIF. Активный HIF воздействует на гипоксии-реакционные гены. Продукты транскрипции этих генов, ответственные за синтез факторов стимуляции ангиогенеза, переносчика глюкозы, полиферментного комплекса гликолиза, клеточной пролиферации, выживаемости клеток при гипоксии, миграции и инвазии клеток [54].

Эти открытия дали материальное подтверждение гипотезе о сигнальной регуляторной роли эндогенного сукцината и позволили понять, и даже спрогнозировать ряд новых противоишемических функций эндогенного сукцината и его источника при кислородном

дефиците – фумарата. С другой стороны, расширение представлений о влиянии образующегося при ишемии сукцината посеяло ряд опасений.

Одно из них связано с тем, что при экспрессивном росте новообразований кровеносные сосуды не успевают прорасти в новообразованную ткань, и появляются очаги ишемии. Кроме того, существует несколько видов опухолей (феохромоцитомы, параганглиомы и др), у которых имеются дефекты каких-либо субъединиц сукцинатдегидрогеназы. Последнее является препятствием для прохождения NADH-фумаратредуктазной реакции и следовательно ограничивает АОС. Но при этом может накапливаться сукцинат из реакций окислительного течения цикла Кребса. Недостаток кислорода и накопление сукцината вследствие АОС или дефекта окисления сукцината, могут способствовать посредством стабилизации HIF дополнительной активации гликолиза – неременного атрибута большинства новообразований, а также стимулировать ангиогенез - проращение новых сосудов в ишемизированную область новообразований. Таким образом, опухолевые ткани по существу «используют» природные механизмы адаптации к гипоксии и ишемии. Иными словами, имеет место опухолевая псевдогипоксическая адаптация. Защитные противогипоксические реакции, играющие важную роль в физиологических и экстремальных условиях, при наличии опухолевого роста приобретают неблагоприятные последствия, так как могут стимулировать опухолевый рост и метастазирование. Естественно такие представления инициировали провозглашение серьезной потенциальной опасности избыточного образования сукцината при опухолевом росте [66, 69]. Появилась гипотеза о том, что ингибирование NADH-фумаратредуктазы может стать одним из компонентов как противоопухолевой терапии, так и противопаразитарного лечения, поскольку у анаэробно существующих гельминтов энергетический метаболизм в значительной мере зависит от анаэробного обращения цикла Кребс [64, 70].

Однако здесь уместно напомнить, что гипотезы и опасения, обосновываемые новыми открытиями, далеко не всегда в полной мере подтверждаются при экспериментальной и клинической проверке. Так, в 2004 году одновременно с публикацией открытия лигандной роли сукцината в отношении орфанового рецептора QPR91 в том же номере журнала Nature появилась редакционная статья. В ней утверждалось, что в связи с тем, что лигандное взаимодействие сукцината с рецептором в macula densa артерий юктагломерулярного аппарата стимулирует выброс ренина, необходимо признать, что прирост концентрации сукцината в кровотоке должен повышать артериальное давление. Эта, казалось бы, безупречная аргументация проверялась неоднократно. Действительно на тканевых препаратах лиганд-рецепторное взаимодействие вызывало выброс ренина.

Показано повышение концентрации сукцината в крови у грызунов со спонтанной гипертензией, ожирением, сахарным диабетом, которое сопровождалось развитием гипертензии у животных, но не у людей в таких же ситуациях [63]. Мы проверили, обладают ли гипертензивным действием два вида сукцинат-содержащих препаратов, предназначенных для приема внутрь. Нам не удалось обнаружить после курсового приема сукцинат-содержащих препаратов какого-либо подъема артериального давления ни у спонтанно гипертензивных животных, ни при длительных трижды повторенных клинических рандомизированных исследованиях.

Отсюда следует, что необходимо определять конкретные границы применимости гипотез и опасений, проверять их практикой. В настоящее время, несмотря на поднятый бум в связи с новыми представлениями и массой экстраполяций, проблема потенциальной опасности прироста уровня сукцината в кровотоке, в том числе и после введения фумарат-содержащих препаратов, при наличии или риске развития онкологических заболеваний до сих пор досконально не изучалась. До тех пор, пока вероятностные прогнозы будут использоваться без репрезентативных экспериментальных и клинических исследований, без целенаправленного изучения реальности опасений вызвать прогрессирование новообразований, следует сохранять онкологическую настороженность. Это общее правило для всех средств в подобной ситуации. Но и отсюда же вытекает острейшая необходимость четко определить именно в аспекте возможного канцерогенеза и его прогрессирования граничные условия, показания и противопоказания для применения высоких доз фумарат-содержащих препаратов.

В связи с возможностью прироста концентрации сукцината в кровотоке, нельзя не отметить, что до сих пор не удалось добиться более чем на 20% приращения содержания сукцината на короткий промежуток времени до 8 мин даже после внутривенного введения сукцината животным опухоленосителям [61]. Более того, концентрация сукцината у людей всегда в 3-4 раза ниже, чем у грызунов. Быстро устранение сукцината из кровотока обусловлено поглощением сукцината почками, печенью, мозгом и другими тканями. В этих тканях радиоактивная метка из сукцината в первые же минуты обнаруживается в малате, глутамате, лактате, глюкозе, аспартате, уреидосукцинате и различных белках. И, наконец, повышенный уровень сукцината у людей обнаружен пока лишь после глубокого кислородного дефицита, вызванного анаэробной нагрузкой или длительной задержкой дыхания при нырянии [37, 46, 48]. Приращения уровня сукцината в крови после введения фумарат-содержащих препаратов пока никто не обнаружил.

Заключение

Изложенный материал дает основание считать фумарат-содержащие препараты биохимическим инструментом, способствующим поддержанию аэробного и анаэробного энергетического обмена. Инъекционные препараты фумарата натрия зарекомендовали себя адекватным лечебным средством при купировании экстремальных критических состояний, особенно ишемии и глубокой гипоксии. Анализ участия фумарата в энергетическом обмене позволяет говорить об особой важности его использования при выходе из ишемических и гипоксических ситуаций. Тесная взаимосвязь метаболизма фумарата с анаэробным образованием сукцината и способностью сукцината оказывать лиганд-рецепторное воздействие на уровне множества тканей наряду со стабилизацией сукцинатом цитозольно-ядерного транскрипционного гипоксии-индуцируемого фактора HIF свидетельствуют о возможности субстратной и сигнальной поддержке организма фумаратом. Фумарат-содержащие препараты показаны в тех условиях, когда требуется весомая субстратная поддержка ключевых звеньев аэробного и анаэробного энергетического обмена на разных уровнях от митохондрий и клеток до целого организма и имеется потребность в мобилизации сигнально-регуляторных адаптивных реакций.

Представленные данные дают основание считать перспективным использование фумарата натрия в качестве биологически активной добавки, принимаемой внутрь. Прием фумарата натрия и других солей фумарата внутрь может оказывать более мягкое воздействие и явно значительно безопаснее, чем вводимые внутривенно в высоких дозах инъекционные реанимационные препараты. Метаболически приемлемые при аэробном и гипоксическом течении энергетического обмена биологические активные добавки на основе природной молекулы фумарата могут проявить себя как эффективные противострессовые и противогипоксические средства. Следовательно, они могут иметь большую перспективу и существенно больший ареал применения, чем известные по результатам интенсивной терапии инъекционные лекарственные формы фумарата натрия.

Литература

1. Бережнов А.В., Федотова Е.И., Немов М.Н., Кокоз Ю.М., Зинченко В.П., Дынник В.В.. Дестабилизация уровня цитозольного кальция и гибель кардиомиоцитов в присутствии производных длинноцепочечных жирных кислот. //Биофизика. 2008 Т 53 (6):1025-1032.

2. Волков М.С., Генкин А.М., Маевский Е.И., Глотов Н.А. Глутаминовая кислота. Биохимическое обоснование практического использования. Свердловск, Средне-Уральск. книж. Изд. 1975. 119 с.
3. Гришина Е.В., Касымов В.А., Ненов М.Н., Бережнов А.И., Федотова Е.И., Грушин К.С., Долгачева Л.П., Кокоз Ю.М., Зинченко В.П., Дынник В.В. Ингибирование энергетики митохондрий производными кофермента А (CoA) токсические эффекты насыщенных жирных кислот./ Материалы международной конференции «Рецепция и внутриклеточная сигнализация», Пушкино, 2007 (5-7 июня) изб. ЛГБТ ПНЦ РАН. С.215-218.]
4. Джонсон П.К. Периферическое кровообращение. Пер.с англ. М. Медицина, 1982. 440 с;
5. Джоши Р.К., Штребель Х-П., Применение производных фумаровой кислоты в трансплантационной медицине»,/Патент РФ № 2210364 от 20.08.2003 Бюл. № 23]
6. Джоши Р.К., Штребель Х-П., «Применение производных фумаровой кислоты для лечения митохондриальных заболеваний» /Патент РФ № 2218918 от 20.12.2003].
7. Джоши Р.К., Штребель Х-П., «Микротаблетки на основе фумаровой кислоты»/ Патент РФ №2210366 от 20.08.2003.
8. Джоши Р.К., Штребель Х-П., «Амиды фумаровой кислоты» /Патент РФ № 2290946 от 10.01.2007.
9. Джоши Р.К., Штребель Х-П., Петцельбауэр П.. «Производные фумаровой кислоты в качестве ингибитора NF-κappa» /Патент РФ №22282440 от 27.08.2006.
10. Джоши Р.К., Штребель Х-П., Цаугг К., Тамм М. Применение производных фумаровой кислоты для лечения сердечной недостаточности и астмы /Патент РФ № 2313339 от 27.12.2007.
11. Джоши Р.К., Штребель Х-П., Цаугг К., Тамм М. «Применение производных фумаровой кислоты для лечения сердечной недостаточности, инфаркта миокарда и стенокардии./Патент РФ № 2459621 от 27.08.2012.
12. Карло К., Педли Т., Шротер Р., Сид У. *Механика кровообращения*. Пер.с англ. М. Мир. 1978. 624 с.
13. Кондрашова М.Н., Маевский Е.И., Бабаян Г.В., Саакян И.Р., Ахмеров Р.Н. Адаптация к гипоксии посредством переключения метаболизма на превращения янтарной кислоты.// В сб. Митохондрии. Биохимия и ультраструктура. М., 1973, стр. 112-129.
14. Лузиков В.Н. Регуляция формирования митохондрий. М., Наука, 1980, 316 с.
15. Лукьянова Л.Д. Молекулярные механизмы тканевой гипоксии и адаптация организма// *Fiziologichnyi Zhurnal* 2003. 49(3)/ с.17-35.
16. Маевский Е.И., Влияние гипоксии и глутамата на реакции дыхательной цепи митохондрий некоторых органов. Автореф. канд. дисс. кмн. Свердловск. 1971. 28 с.
17. Маевский Е.И., Розенфельд А.С., Гришина Е.В., Кондрашова М.Н. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий, Пушкино, 2001, 155 с.
18. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера том 2. Биоэнергетика и метаболизм. Пер с англ. М. Бином, 2014, 636 с.
19. Писаренко О.И., Соломатина Е.С., Иванов В.Э., Студнева И.М. Влияние глутаминовой кислоты на анаэробное образование АТФ в мышце сердца.//Биохимия, 1984, т. 49, вып. 12, стр. 2019-2025.

20. Писаренко О.И., Соломатина Е.С., Студнева И.М. Взаимосвязь между содержанием глутамата и адениннуклеотидов в митохондриях сердца при гипоксии. //Биохимия, 1987, т. 52, (4) с. 543-548.
21. Писаренко О.И., Студнева И.М., Хлопков В.Н., Соломатина, Рууге Э.К. Образование продуктов анаэробного обмена в ишемическом миокарде.// Биохимия, 1988, т. 53, (3), с. 491-496.
22. Писаренко О.И., Хлопков В.Н., Рууге Э.К. Изучение методом ЯМР образования сукцината из экзогенных предшественников в неаэрируемых митохондриях сердца крысы.// Биохимия, 1986, т. 51, с. 1174-1179.
23. Сарафанова А.А. Энциклопедия «Пищевые добавки». СПб, Профессия, 2012, 776 с.
24. Селиванов Е.А., Слепнева Л.В., Алексеева Н.Н., Хмылова Г.А., Герасимова М.Л. Эффективность применения фумарат-содержащих препаратов полифункционального действия в инфузионной терапии неотложных состояний // Вестник СПбГМА им. И.И.Мечникова. 2006. №2. с. 150-153.
25. Селиванов Е.А., Слепнева Л.В., Алексеева Н.Н., Хмылова Г.А., Гербут К.А., Герасимова М.Л., Крылова И.Б., Зарубина И.В. Использование препарата «Конфумин» для лечения ишемии миокарда в эксперименте // Медицинский академический журнал. 2008. Т. 8, № 2. с. 62-68.
26. Селиванов Е.А., Слепнева Л.В., Алексеева Н.Н., Холодный Г.А. . Плазмозамещающий раствор для лечения шока "мафусол"/ Патент РФ №1630043 от 28.02.1994.
27. Селиванов Е.А., Слепнева Л.В., Алексеева Н.Н. и др. Опыт применения полиоксифумарина для лечения гиповолемии у детей// Биомедицинский журнал medline.ru 2010, том 11, ст. 1, с. 1-11.
28. Селиванов Е.А., Слепнева Л.В., Алексеева Н.Н., Хмылова Г.А., Герасимова М.Л. Фумаратсодержащие инфузионные растворы как средство выбора при оказании неотложной медицинской помощи // Журнал «Медицина экстремальных ситуаций». 2012. №1. с. 85-94.
29. Селье Г., На уровне целого организма, пер с англ. М. Наука, 1972, 122 с.
30. Слепнева Л.В., Алексеева Н.Н., Хмылова Г.А., Герасимова М.Л., Селиванов Е.А. Конфумин – инфузионный антигипоксический раствор для использования в схемах инфузионно-трансфузионной терапии гиповолемических состояний // Трансфузиология. 2012. Т. 13, №3. с. 95-96.
31. Слепнева Л.В., Селиванов Е.А., Алексеева Н.Н., Хмылова Г.А., Герасимова М.Л., Крылова И.Б. Препарат «Конфумин» как эффективное средство борьбы с гипоксией различной этиологии // Трансфузиология. 2007. Т. 8, № 1-2. с. 75-76.
32. Физиология человека. под. ред Р.Шмидта и Г.Тевса, пер.с англ. М. МИР. 2005 .том 2. 314 с.
33. Физиология эндокринной системы. Под ред Дж. Гриффина, С.Охеды. пер. с англ. М. Бином, 2008, 496 с.].
34. Ханевич М.Д., Селиванов Е.А., Фадеев Р.В. Использование антигипоксантных инфузионных растворов для профилактики и лечения послеоперационного перитонита при панкреодуоденальной резекции// Биомедицинский журнал. Medline.ru 2010, том 11, ст.. 22 с. 284-290.

35. Ханевич М.Д., Гипарович М.А., Слепнева Л.В. Опыт применения конфумина для лечения гиповолемии и взрослых пациентов с онкопатологией //Биомедицинский журнал medline.ru 2012. том 13, ст. 82, с. 987-1001.
36. Хмылова Г.А. Биологические свойства нового кровезамещающего раствора полифункционального действия на основе полиэтиленгликоля и фумарата натрия – Полиоксифумарина. Автореф. Канд. Дисс. , кмн, СПб. 1999.
37. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. Пер. с англ. Мир, М.,1977, 398 с.
38. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. Пер. с англ. Мир, М.,1988, 567 с.
39. Шустов Е.Б., Оковитый СВ. Экс-орфанные рецепторы как мишени для потенциальных лекарственных средств // Биомедицина • № 2, 2015, С.15-29.
40. Cascarano J., Ades J. Z., O'Connor J. D. Hypoxia: a succinate-fumarate electron shuttle between peripheral cells and lung.// J. exp. Zool. 1976, v. 198, 149-154.
41. Gill AJ¹, Kolson DL. Dimethyl fumarate modulation of immune and antioxidant responses: application to HIV therapy // Crit Rev Immunol. 2013;33(4):307-59;
42. Grivennikova V.G., Gavrikova E.V., Timoshin A.A., Vinogradov A.D. Fumarate reductase activity of bovine heart succinate-ubiquinone reductase. New assay system and overall properties of the reaction. //B.B.A. 1993 Jan v. 1140(3), p. 282-292.
43. Gronow G.H., Cohen J.J. Substrate support for renal function during hypoxia in the perfused rat kidney. - Am. J. Physiol., 1984, v. 247, p. F618-F631.. Jap. Assoc. Thorac. Surg., 1983, v. p. 1537-1543.
44. He W., Miao F.J.-R, Lin D.C.-H., Schwandner R. T., WangZ., Gao J., Chen J.-L., Tian H., Ling L. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors // Nature. 2004. V. 429. P. 188-193.
45. Hoberman H.D, Prosky L. Evidence of reduction of fumarate to succinate in perfused rat liver under conditions of reduced O₂ tension.//B.B.A. 1967, v. 148, p. 392-398.
46. Hochachka P.W., Dressendorfer R.H. Succinate accumulation in man during exercise. //Eur. J. appl. Physiol. 1976, v. 35, 235-242.
47. Hochachka P.W., Mustafa T. Enzyme mechanisms and pathways in invertebrate facultative anaerobiosis. //Science, 1972, v. p. 1056-1060.
48. Hochachka P.W., Owen T. G., Allen J. F., Witton G. C. Multiple products of anaerobiosis in diving vertebrates.//Comp. Biochem. Physiol., 1975, v. 508, p. 17-22.
49. Hohl C., Oestreich, Rosen P., Wiesner R., Grieshaber M. Evidens for succinate production by reduction of fumarate during hypoxia in isolated adult rat heart cells. // Arch. Biochem. Biophys., 1987, v. 259, 2, p. 527-535.
50. Hunter F.E. Anaerobic phosphorylation due to a coupled oxidation-reduction between α -ketoglutaric acid and oxalacetic acid. - J. Biol. Chem., 1949, v. 177, p. 361-372.
51. Kondrashova M.N., Volkova S.P., Kuznetsov V.I., Grigorenko E.V., Babsky A.M., Podoletz A., Kuznetzova G.D. Succinic acid as a physiological signal molecule. - in: Signal molecules and behaviour. Ed. by W.Window, O.S.Vinogradova, D.A.Sakharov. Manchester University Press, Manchester N.Y., 1991, p.294-301.
52. Von Korff R.W. Changes in metabolic control sites of rabbit heart mitochondria//Nature, 1967, v. 214, 23-26.
53. Krebs H.A., Cohen P.P. - Biochem. J., 1939, v. 33, p. 1893-1897.
54. L. D. Lukyanova Mitochondrial Signaling in Hypoxia //Open Journal of Endocrine and

Metabolic Diseases, 2013, 3, 213-225.

55. Maevsky E.I., Gusar I.B., Rosenfeld A.S., Vdovichenko V.I., Naljuk V.I., Rotenberg Yu.S., Kondrashova M.N. Doesn't succinic acid mediate adrenaline stimulation in mitochondria? //II Europ. bioenergy. conf. Lyon. 1982, p. 589-590.]
56. Moraes T.F., Reithmeier R.A.F. Membrane transport metabolons (Review)// *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* 2012, V.1818, s.11, p.2687–2706.
57. Olson M.S., Von Korff R.W. Changes in endogenous substrates of isolated rabbit heart mitochondria during storage.//*J. Biol. Chem.* 1967, v. 242, 2, p. 325-332.
58. Nihon W.L., Busch H. Metabolic Patterns for Succinate-2-C¹⁴ in Tissues of Tumor-bearing Rats // *Cancer Research* 1958 Vol. 18, p.1203-1208.
59. Peuhkurinen K.J., Takala T.E.S., Nuutinen E.M., Hassinen Tricarboxylic acid cycle metabolites during ischemia in isolated perfused rat heart. // *Am. J. Physiol.*, 1983, v. 244, H281-H288.
60. Pisarenko O.I., Khlopkov V.N., Ruuge E.K. A ¹H NMR study of succinate synthesis from exogenous precursors in oxygen-deprived rat heart mitochondria.// *Biochem. Int.* 1986, 12, N 1, p. 145-153.
61. Pisarenko O.I., Solomatina E.S., Studneva I.M. et al. Effect of glutamic and aspartic acids on adenine nucleotides, nitrogen compounds and contractile function during underperfusion of isolated rat heart.// *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1983, v. 15, p. 53-60.
62. Roth M., Obaidat A., Hagenbuch B. OATPs, OATs and OCTs: the organic anion and cation transporters of the *SLCO* and *SLC22A* gene superfamilies// *Br J Pharmacol.* 2012 Mar; 165(5): 1260–1287.
63. Sadagopan N., Li W., Roberds S.L., Major T., Preston G. M., Yu Ying, and Tones M. A. Circulating Succinate is Elevated in Rodent Models of Hypertension and Metabolic Disease// *American Journal of Hypertension* 2007; 20:1209-1215
64. Sakai C, Tomitsuka E, Esumi H, Harada S, Kita K. Mitochondrial fumarate reductase as a target of chemotherapy: from parasites to cancer cells.// *B.B.A.* 2012 May;1820(5):643-51.
65. Sanadi D.R., Fluharty A.L. On the mechanisms of oxidative phosphorylation. VII. The energy-requiring reduction of pyridine nucleotide by succinate and the energy-yielding oxidation of reduced pyridine nucleotide by fumarate.// *Biochemistry*, 1963, p. 523-528.
66. Selak M.F., Armour S.M., MacKenzie T.D. et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- α prolyl hydroxylase.// *Cancer Cell.* 2005 Jan;7(1):77-85.
67. Sogabe H. Effects of L-malate on ischemic myocardium experimental study.// *J. Jap. Assoc. Thorac. Surg.*, 1983, v. p. 1537-1543.
68. Taegtmeyer H. Metabolic response to cardiac hypoxia. Increased production of succinate by rabbit papillary muscles. // *Circ. Res.*, 1978, v. 43, p. 808-815.
69. G.M. Tannahill, AM Curtis, J. Adamik Succinate is a danger signal that induces IL-1 β via HIF 1 α // *Nature.* 2013, 496(7444): 238–242.
70. Tomitsuka E, Kita K, Esumi H. The NADH-fumarate reductase system, a novel mitochondrial energy metabolism, is a new target for anticancer therapy in tumor microenvironments.// *Ann N Y Acad Sci.* 2010 Jul;1201: 44-49.
71. Van Hellemond J.J., Tielens A.G.M. Expression and functional properties of fumarate reductase.// *Biochem. J.*, 1994, v. 304, p. 183-193.

72. Wiesner R.J., Rosen P., Grieshaber M.K. Pathways of succinate formation and their contribution to improvement of cardiac function in the hypoxic rat heart.//Biochem. Med. Metabol. Biology, 1988, v. 40, p. 19-34.
73. Wiesner R.J., Ruegg J.C., Grieshaber M.K. The anaerobic heart: succinate formation and mechanical performance of cat papillary muscle. - Exp. Biol., 1986, v. 45, p. 55-64.
74. Wilson M.A., Cascarano J. The energy-yielding oxidation of NADH by fumarate in submitochondrial particles of rat tissues. //B.B.A. 1970, v. 216, p. 54-62.

Приложение к статье.

Таблица 1

СОДЕРЖАНИЕ «ФУМАРОВОЙ КИСЛОТЫ»*в некоторых растительных продуктах

Продукт	Содержание фумаровой кислоты (ФМ)	Название работы	Источник
1. Диетическая репа	ФМ 1,16 г на кг сухого веса (10 мМ). В листьях, стебле, корневище ФМ 1,5- 3,3% от общего содержания орг. кислот (яблочной 78% , лимонная + α -кетоглу- тарат 17%)	F.Fernandes et al. Chemical and antioxidative assessment of dietary turnip (<i>Brassica rapa</i> var. <i>rapa</i> L.) Из университета в Porto, Portugal и из института в Braganca, Portugal	Food Chemistry. 2007. v. 105. P. 1003-1010
2.Сладкая португаль- ская капуста	ФМ 39 мг на кг сухого веса (0,34 мМ). Оsn. масса орг. кислот: аск. > лим. > ябл.:	F.Ferreres et al. Tronchuda cabbage (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>costata</i> DC) seeds: Phytochemical characterization and antioxidant potencial. Из университета в Espinarde, Spain, университета в Porto, Portugal и из института в Braganca, Portugal	Food Chemistry. 2007. v. 101. P. 549-558
3. Грибы из Сербии	ФМ 200 мг на 100 г сухого веса (17 мМ). Оsn. масса орг. кислот: щавелевая и лимонная	<i>Boletus aereus</i> growing wild in Serbia: chemical profile, in vitro biological activities, inactivation and growth control of food- poisoning bacteria in meat. Food Scientists & Technologists. India	J. Food Sci Technol. 2015, v. 52, No. 11. p. 7385-7392.

4. Съедобные грибы из Польши	Наибольшее содержание ФМ от 4,5 до 23,5% от общ массы орг. к-т. 220 мг на 100 г сух. веса (18,965 мМ).	Nutritional value, bioactive compounds and antioxidant properties of three edible mushrooms from Poland	Food
5. Съедобные грибы 25 видов из Португалии	ФМ 0,5-8% от общего пула орг. кислот, где преобладают лимонная с кетоглут. и яблоч. Др. цифр нет.	P. Valentao et al. Quantitation of nine organic acids in wild mushrooms. Из университета в Porto, Portugal и из института в Braganca, Portugal	J. Agricultural and Food Chemistry. v. 53. p. 3626-3630 2005.
6. Экстракт из 500 г сухого Aloe vera , объем 200 мл	ФМ (1 мг/мл) идентифицирована как бактериостатический компонент против Staph. aureus, Streptococc., E. coli, Salmonella	Chang-Liang He et al. Fumaric acid, an antibacterial component of Aloe vera L. Jilin University, Xi'an & Beijing University, Beijig. Cnina	Afric. J Biotechnology. 2011. v.10 (15). p. 2973-2977
7. Помидоры двух разных сезонов, 5 сортов	В среднем ФМ 2.8 мг в 100 г (0,24 мМ), при общем содержании аск, лим, ябл, шавел, фум и пиров 500 мг/кг, pH ~ 4.17.	M.H . Suares et al. Analysis of organic acid content in cultivars of tomato harvested in Tenerife University of La Laguna, Spain	Eur Food Res Technol. 2008. v. 226. p. 423-435
8. Пиво в процессе ферментации	На уровне 70% ферментации ФМ К-та достигает 8 мг/л (срав. Уксусн. до 250 мг/л)	Hung Li & Fang Liu Cnanges in organic acids during beer fermentation China Nat. Res. Inst. Foof & Fernet., Beijing. China	J Am Soc Brew Chem. 2015. v. 73. no. 3. p 275-279
9. Яблочный сок	(ФМ) Fumarate 23.5 µmol/l	I. Razmisleviciene, R. Baltuskonyte, E. Nauyal/ Determination of fumaric and maleic acids by capillary electrophoresis	CHEMIJA. 2008. Vol. 19. Nos. 3-4. P. 33-37

В отечественной литературе есть количественные данные по яблокам. Далее выдержка из текста близко к оригиналу [Сарафанова Л.А. Применение пищевых добавок в индустрии напитков. СПб. Профессия. 2007. 240 с.].

Все кислоты цикла Кребса найдены в различных сортах яблок и получаемых из них продуктах (пюре, соках, винах и т.п.). Яблочная кислота является доминирующей и в зависимости от сорта содержание ее в зрелых плодах находится в интервале от 0,32 до 1,6% (3,2 – 16,0 г на кг) и составляет более 70% всех кислот. Уровень яблочной кислоты достигает максимального значения у молодых плодов, а к моменту съема снижается на

30—50%. Количество лимонной кислоты в отечественных сортах яблок находится в пределах 6,5—17%, а янтарной—3,5—7,5% от суммарного содержания кислот. На долю остальных кислот приходится менее 10%. В яблоках, культивируемых в США и Англии, доля лимонной кислоты не превышает 0,2—0,3% кислот, а янтарная кислота обнаружена лишь в следовых количествах. При созревании яблок отмечено снижение содержания яблочной кислоты, увеличение лимонной и сравнительная стабильность уровня янтарной кислоты. Очень мало в яблоках винной 30—90 мг%, **фумаровой 25—60 мг% (то есть 250-600 мг на кг)**, щавелевой 5—74 мг%, пировиноградной, α -кетоглутаровой и галактуроновой кислот.

О состоянии фумаратов в организме животных и человека. Следует отметить, что одномоментно в организме человека (в пересчете на 80 кг, состояние покоя) содержится около 4 грамм фумарата, большая часть которого (более 95 масс. %) представлена калиевой и натриевой солями. Наличие в организме животных и человека свободной фумаровой кислоты практически невозможно из-за того, что при диссоциации она моментально перехватывает любой катион, в первую очередь натрия, но внутри клетки преобладают ионы калия, и превращается в соль. Косвенно это подтверждается тем, что практически все выделенные из организма фумараты легко растворяются в воде, так как являются фумаратами натрия и калия, и лишь частично представлены хуже растворимыми фумаратами кальция, магния, цинка, тогда как сама свободная фумаровая кислота в воде и водных средах растворяется крайне слабо: ее растворимость в воде (при 16°C почти 1:150).

Существует «ходячее» представление о том, что все «животные» продукты такие, как говядина, свинина, мясо кроликов, домашней птицы, дичи и рыбы содержат натриевые и калиевые соли фумаровой кислоты. Основная масса фумарата калия, сосредоточена преимущественно в митохондриях и может достигать 0,1-2 г/кг веса (в более свежих продуктах концентрация фумарата выше). Меньшие количества фумарата натрия находят во внутри- и межклеточном пространстве указанных тканей. Однако реальных ссылок нет.

О «токсичности» фумарата. Без ссылок на какие-либо исследования авторы различных работ, представленных в интернет ресурсах и Л.А. Сарафановой [Пищевые добавки. Энциклопедия» Профессия, 2012, 776 с/] повторяют друг за другом, что фумарат натрия в дозах порядка 50-100 мг на кг массы тела токсичен для печени и яичек (данных или теоретических аргументов не приводят). Без аргументированных оснований установлен (кем-то?) предельный уровень в 6 мг фумарата натрия на кг массы тела человека в сутки, то есть для людей массой 60-80 кг это составит 360-480 мг в сутки. И это при том, что из результатов клинического испытания следует, что огромные дозы 30-35 г фумарата натрия при разовом введении не токсичны.

Помимо лекарственных средств, известно, что предприятие ООО «ЭкоМед-Сервис» (Тула) предлагает витаминную БАД с содержанием 2 мг фумарата натрия на прием в сутки. Очевидно, что эта доза не может считаться опасной, даже с точки зрения ничем не аргументированных «ходячих» представлений.