

- variables after fibrinogen or platelet transfusion in valve replacement surgery: preliminary data of purified lyophilized human fibrinogen concentrate versus conventional transfusion. *Transfusion*. 2013; 30. doi: 10.1111/trf.12248
57. Stanzel R.D.P., Henderson M., O'Blens S.B. Prophylactic fibrinogen administration during complex congenital cardiac surgery leading to thrombosis of a patient's brachial artery and the cardiopulmonary bypass circuit: a case report. *Perfusion*. 2013. doi: 10.1177/0267659113513312
 58. Fenger-Eriksen C., Jensen T.M., Kristensen B.S., Jensen K.M., Tonnesen E., Ingerslev J., Sorensen B. Fibrinogen substitution improves whole blood clot firmness after dilution with hydroxyethyl starch in bleeding patients undergoing radical cystectomy: A randomized, placebo-controlled clinical trial. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7: 795—802.
 59. Fenger-Eriksen C., Lindberg-Larsen M., Christensen A.Q., Ingerslev J., Sorensen B. Fibrinogen concentrate substitution therapy in patients with massive haemorrhage and low plasma fibrinogen concentrations. *Br. J. Anaesth.* 2008; 101: 769—73.
 60. Stinger H.K., Spinella P.C., Perkins J.G., Grathwohl K.W., Salinas J., Martini W.Z. et al. The ratio of fibrinogen to red cells transfused affects survival in casualties receiving massive transfusions at an army combat support hospital. *J. Trauma*. 2008, 64: S79—85.
 61. Schöchl H., Nienaber U., Hofer G., Voelckel W., Jambor C., Gisela Scharbert G., Kozek-Langenecker S., Solomon C. Goal-directed coagulation management of major trauma patients using thromboelastometry (ROTEM)-guided administration of fibrinogen concentrate and prothrombin complex concentrate. *Crit. Care*. 2010; 14 (2): R55.
 62. Fries D., Haas T., Klingler A., Streif W., Klima G., Martini J., Wagner-Berger H.P., Innerhofer P. Efficacy of fibrinogen and prothrombin complex concentrate used to reverse dilutional coagulopathy — a porcine model. *Br. J. Anaesth.* 2006; 97: 460—7.
 63. Gollop N.D., Chilcott J., Benton A., Rayment R., Jones J., Collins P.W. National audit of the use of fibrinogen concentrate to correct hypofibrinogenaemia. *Transfus. Med.* 2012; doi: 10.1111/j.1365—3148.2012.01168.x
 64. Radulovic V., Baghaei F., Blixter I.F., Samuelsson S., Jeppsson A. Comparable effect of recombinant and plasma-derived human fibrinogen concentrate on ex vivo clot formation after cardiac surgery. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10 (8): 1696—8.
- * * *
- *1. Долгов В.В., Свиринов П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М.: Триада; 2005.
 - *30. Кречетова А.В. Нарушение гемостаза при сепсисе у онкогематологических больных с миелотоксическим агранулоцитозом: Дисс. М.; 2011.
- Поступила 12.02.14
Received 12.02.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 616-005.4-085:577.2.08

**Гребенчиков О.А.¹, Лихванцев В.В.¹, Плотников Е.Ю.^{2,5}, Силачев Д.Н.²,
Певзнер И.Б.³, Зорова Л.Д.⁴, Зоров Д.Б.^{2,5}**

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И АДРЕСНАЯ ТЕРАПИЯ СИНДРОМА ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

¹ФГБУ НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского, Москва; ²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва; ³факультет биоинженерии и биоинформатики Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва;
⁴Международный лазерный центр Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва; ⁵НИИ митоинженерии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва

Связка ишемия-реперфузия или гипоксия-реоксигенация являются едва ли не определяющим процессом, который призвана изучать реаниматология, так как данный процесс лежит в основе развития большинства критических состояний. Блокада кровотока по основным сосудам, снабжающим ткань кислородом и питательными субстратами, приводит к состоянию ишемии, сопровождающейся перестройкой окислительного метаболизма и повышенной генерацией активных форм кислорода (АФК). АФК в малых дозах являются необходимым элементом клеточного метаболизма, однако превышение их уровня над оптимальным в клетке становится угрозой для существования самой клетки, органа и всего организма. Парадоксально, но восстановление кровотока после длительного эпизода ишемии приводит к окислительному взрыву, что часто фатально для биологической системы. Кислородный парадокс является сдерживающим моментом в клинической практике, интуитивно стремящейся к быстрейшему и максимальному восстановлению нарушенного кровотока. Так как митохондрия является одним из основных производителей АФК и элементом сигнализации, приводящей к гибели клетки, становится ясно, что основной мишенью антиишемической стратегии должны быть митохондрии. В обзоре рассматриваются два элемента этой стратегии, вызывающих при помощи митохондрий толерантность к ишемии, а именно естественная (биологическая) и искусственная (фармакологическая) адаптивные системы (системы preconditionирования), причем последняя призвана имитировать элементы и высокую эффективность биологической системы защиты от ишемии. Рассмотрена роль антиоксидантов в антиишемической терапии и их влияние на системы preconditionирования.

Ключевые слова: митохондрии; ишемия; реперфузия; preconditionирование; антиоксиданты; апоптоз; почка; мозг; миокард.

MOLECULAR MECHANISMS OF ISCHEMIC-REPERFUSION SYNDROME AND ITS THERAPY

Grebenchikov O.A.¹, Likhvantsev V.V.¹, Plotnikov E.Yu.^{2,5}, Silachev D.N.², Pevzner I.B.³, Zorova L.D.⁴, Zorov D.B.^{2,5}

¹ Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, 107031, Moscow, Russian Federation; ² Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology of Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation;
³ Department of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation; ⁴ International Laser Center of Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation;
⁵ Institute of Mitoengineering of Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation;

Cardiovascular pathologies are the major causes of morbidity and mortality in the world. Cessation of the blood flow in large vessels, supplying tissues with oxygen and substrates, leads to ischemic conditions accompanied by unwanted shifts of oxidative metabolism and rise of the reactive oxygen species (ROS) generation. Small amounts of ROS are essential elements of the cell metabolism, however, pathological elevation of ROS jeopardizes the survival of cells, organs and even organisms. Paradoxically, blood flow restoration during prolonged ischemia leads to oxidative stress that is often fatal for a live system. Oxygen paradox appears to be a limiting factor in clinical practice that intuitively seeks for immediate and complete restoration of a damaged blood flow. Mitochondrion is a major ROS source and a key element of pro-apoptotic signaling, however it is clear, that mitochondria are the main target for anti-ischemic treatment. In the present review we consider two ways of such anti-ischemic strategy, bringing ischemic tolerance to the organ through mitochondrial involvement, such as intrinsic, biological, or artificial, pharmacological adaptive systems (preconditioning). The latter is aimed to simulate elements and high efficiency of intrinsic protective system. The role of antioxidants in anti-ischemic therapy and their effects on preconditioning signaling are discussed in the review.

Key words: mitochondrions; ischemia; reperfusion; preconditioning; antioxidants; apoptosis; kidney; brain; myocardium

Связка ишемия-реперфузия или гипоксия-реоксигенация является едва ли не определяющим состоянием, которое призвано изучать реаниматология, так как данный процесс лежит в основе развития большинства критических состояний. Патологии, связанные с острым нарушением кровообращения органов и последующей дисфункцией, занимают ведущее место в структуре смертности во всем мире. На 1-м месте стоят заболевания, связанные с сердечно-сосудистыми нарушениями. По данным Росстата, в 2010 г. показатель смертности населения от болезней системы кровообращения составил 805,9 на 100 тыс. человек. На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности российского населения, составляющей 56,8% от всех смертных случаев. Ежегодно в России регистрируется более 600 тыс. случаев острого коронарного синдрома, из которых около 200 тыс. приходится на инфаркты миокарда. Смертность больных, перенесших инфаркт миокарда, в течение первого года после регистрации заболевания составляет 36—39%. Надо отметить, что ишемия миокарда является основной причиной заболеваемости и летальности после хирургических операций. Более чем половина из 40 тыс. смертей после оперативных вмешательств в США обусловлена кардиальными причинами [1].

Ишемия головного мозга занимает 2-е место среди причин смертности, причем в год в Российской Федерации это заболевание регистрируют более чем у 450 тыс. человек, из которых в течение первого года умирают более 200 тыс. [2]. Одновременно наблюдается увеличение количества черепно-мозговых травм, смертность и инвалидизация от которых, как и при инсульте, крайне высока [3]. Другими распространенными патологиями, сопряженными с высокой летальностью, являются нарушения функции почек ренальной и прerenальной этиологии. Несмотря на дальнейшее развитие методов терапии, не уменьшается количество пациентов с ишемической острой почечной недостаточностью, сопровождающейся высокой смертностью [4]. Одной из острых и по-прежнему нерешенных проблем реаниматологии является постреанимационная болезнь (ПРБ), развивающаяся в организме больного вследствие ишемии, вызванной глобальным нарушением (остановкой) кровообращения после успешной реанимации, и характеризующаяся тяжелыми нарушениями функционирования органов, главным образом мозга и сердца. Из всех больных, перенесших реанимацию, более 80% испытывают ПРБ, из которых в течение 6 мес выживает только 20%. Одной из основных причин смертности являются неврологические нарушения, которые могут быть отсрочены. Кроме того, 40—50% выживших пациентов

страдают от постоянного ухудшения таких когнитивных функций, как память и внимание [5]. К другим причинам смертности в постреанимационном периоде относятся дисфункции различных внутренних органов, прежде всего сердца и почек.

В последнее время становится очевидно, что основным повреждающим механизмом при остром нарушении кровообращения является не столько сама ишемия, сколько следующее за ней восстановление кровотока, главным образом приводящее к развитию окислительного стресса, который является выраженным и в значительной мере необратимым деструктивным процессом, ведущим к гибели реоксигенированных клеток и функциональной несостоятельности органов [6].

Тканевая реперфузия после ишемии, обязательно необходимая для выживания клеток, может быть образно названа "палкой о двух концах", поскольку она ассоциируется с дальнейшим повреждением, известным как реперфузионное повреждение [7]. Механизмы реперфузионного повреждения органов требуют понимания, поскольку они отражают не только физиологическую функцию кислорода как основного участника крайне необходимого окислительного метаболизма, но и как возможного участника нежелательных окислительных процессов в организме, являющихся источником целого ряда патологий.

Утилизация кислорода за счет ферментативного катализа в среде с нормальным содержанием кислорода является одним из обязательных атрибутов эукариотических организмов. В нормальных условиях катализ обеспечивается в основном митохондриальной цитохромоксидазой, обеспечивающей восстановление молекулярного кислорода за счет передачи двух электронов с последующим образованием воды. В условиях кислородной недостаточности молекула кислорода в тех же митохондриях может приобретать лишь один электрон, давая начало одному из элементов так называемых активных форм кислорода (АФК), отличительной характеристикой которых является высокая окислительная способность. Надо отметить, что и в нормальных условиях несколько процентов утилизируемого кислорода идет на образование АФК (в первоначальном варианте супероксид аниона), которые являются жизненно необходимым компонентом, обеспечивающим внутри- и межклеточную сигнализацию [8]. Гомеостаз АФК в клетке, видимо, является необходимым требованием нормального протекания физиологических процессов, и избыточный или недостаточный уровень АФК в клетке или ткани приводит к окислительному или восстановительному стрессу соответственно [9—11]. В организме обеспечивается постоянное взаимопревращение АФК с разными окислительными способностями (различными редокс-потенциалами), временами жизни и разными способностями проникать в клетки и клеточные компартменты. Из супероксид-аниона за счет разных супероксид-

Информация для контакта (Correspondence).

Гребенчиков Олег Александрович (Grebchenikov O.A.):
e-mail: oleg.grebchenikov@yandex.ru

дисмутаза образуется перекись водорода, а из нее в присутствии ионов переходных металлов образуется очень сильный окислитель, гидроксильный анион-радикал. Кроме этого, в клетке может образовываться синглетный кислород, и все они вместе с перечисленными формами могут дать начало другим производным кислорода после взаимодействия с разными химическими компонентами или витальными частями клеток; в частности, в последнем случае образуя перекисные продукты. Упомянутый гомеостаз АФК поддерживается не только за счет регулируемого или мало регулируемого синтеза, но и потребления АФК, которое, как мы отмечали, носит обязательный характер для обеспечения клеточной сигнализации, а избыток АФК потребляется эндогенными редокс-буферами, такими, как глутатион или мажорные некаталитические белки, такие, например, как альбумины.

Понятно, что в разных клетках и тканях уровень АФК очень сильно различается в зависимости от функции ткани [12]. В активно пролиферирующих клетках и в тех, которые наиболее часто подвергаются атакам патогенов (например, клетки легких или крови), эндогенный уровень АФК высок и очень сильно определяется метаболизмом и состоянием борьбы с патогенами, в то время как в слабо метаболизирующих клетках с малым пролиферирующим потенциалом этот уровень несравненно ниже.

Из сказанного следует, что в активных тканях высших животных, таких как мозг, сердце и почки, проблема гомеостаза АФК носит первоочередное значение, поскольку возможен нежелательный переход от функционально значимой функции АФК как внутриклеточных сигнальных элементов к патологической функции АФК как неизбежных окислителей, теоретически способных к ненужным окислительным модификациям белков, липидов, нуклеиновых кислот и прочих компонентов клеток и тканей. Такой переход, как мы уже замечали, вызывает окислительный стресс, однако и недостаток АФК, не обеспечивающий нужную клеточную сигнализацию, также имеет патологические последствия, вызывая ненужное восстановление клеточных компонентов (восстановительный стресс).

Как бы то ни было основным регулятором уровня АФК в клетке и ткани является содержание кислорода, который обязан доставляться в ткани за счет активного транспорта, осуществляемого кровью молекулами гемоглобина, в мышечной ткани молекулами миоглобина, а в остальных тканях за счет диффузии кислорода из капилляров в ткань. Понятно, что в тканях с высоким метаболизмом при прекращении подачи кислорода очень быстро наступает состояние гипоксии и, если учитывать, что при остановке кровотока параллельно с прекращением доставки кислорода нарушается и доставка питательных субстратов, наступает состояние, именуемое ишемией. В нормальной ткани имеется некоторый резерв питательных субстратов (свободная глюкоза, аминокислоты, гликоген), да и наличие имеющихся в тканях протеолитических и липолитических ферментов обеспечивает некоторый, хотя и ограниченный, поток субстратов окисления, которым ткань и пользуется, а резерв кислорода у тканей немышечного происхождения минимален и в этих тканях довольно быстро наступает состояние ограничения тканевого дыхания концентрацией доступного кислорода (гипоксия). Время, которое ткань может пережить это состояние, очень тканеспецифично, если сердечная или почечная ткань может в какой-то не очень фатальной для всего организма фазе пережить это состояние в течение минут или десятков минут (может быть и несколько часов), то в мозге уже после нескольких минут гипоксии наступают необратимые явления, связанные с освобождением из клеток мозга токсических доз глутамата [13], который до тех пор будучи освобожденным в малых дозах осуществлял сигнальную функцию, в этих токсических дозах превращался в молекулу — убийцу нейронов через систему, опять же опосредуемую митохондриями [14].

Вот это, критическое временное витальное окно, которое ткань может перенести без особых последствий для организма, очень важно не только для понимания патогенеза, но и стратегии действий в условиях такой патологии. На данный момент не все ясно, что происходит с тканью в условиях длительной гипоксии (за исключением, может быть, как мы указывали, мозга), но кажущаяся простота решения, связанная с желанием в условиях клиники любыми путями восстановить кровоток, может быть фатальной, ибо в гипоксической ткани в зависимости от времени нахождения в гипоксической фазе могут произойти необратимые явления, при которых восстановление доступа кислорода может быть не только терапевтически эффективным, но и губительным [15—17]. Почему это происходит не очень понятно. Одними из патогенных факторов (но явно не единственными) являются АФК, образующиеся в ткани, и если учитывать, что митохондрии являются основными поставщиками АФК, то именно они и становятся главным действующим лицом в цепи драматических событий (основным поставщиком патогенного начала) при ишемическом повреждении ткани. Ситуация достаточно парадоксальная — с точки зрения химии образование АФК как "родственников" кислорода должно следовать химическим законам, а именно зависеть в прямой пропорции от концентрации молекулярного кислорода (образование АФК из кислорода — это реакция первого порядка). Проще говоря, чем меньше концентрация молекулярного кислорода, тем должно быть меньше образование АФК. Так оно и происходит в некотором интервале pO_2 , но при достижении некоторого гипоксического минимума, характерного для каждой ткани, при дальнейшем уменьшении pO_2 наступает не уменьшение, а увеличение генерации АФК [15—17]. Явление усиленной генерации АФК в условиях гипоксии было названо "кислородным парадоксом" [23], который явно ограничивал требование восстановления кровотока в гипоксическую ткань без некоторых дополнительных профилактических мер. С одной стороны, этот парадокс может объясняться механизмом генерации АФК в митохондриях, когда в условиях, при которых уровень кислорода в районе митохондрии становится меньше аффинности митохондриальной цитохромоксидазы для кислорода, происходит перевосстановленность дыхательных переносчиков, отвечающих за производство АФК, в результате чего вся утилизация кислорода сводится к образованию АФК. С другой стороны, возможна активация процесса ROS-induced ROS release [18] в его патологической форме, когда низкие значения АФК могут вызывать (опять же в митохондриях) генерацию взрыва продукции АФК по пока еще непонятной схеме амплификации сигнала.

Однако если гипоксия сама по себе может быть признана условно-патогенной, то переход от гипоксии к нормоксии (названный либо как гипоксия-реоксигенация, либо как ишемия-реперфузия) [19—21] может сопровождаться окислительным взрывом, механизм которого остается неясным. Есть все основания считать, что именно вышеуказанный процесс ROS-induced ROS release [18] является возможной основой патогенеза при возобновлении доставки кислорода (например, при восстановлении нарушенного кровотока). Но, как мы отмечали, на сегодняшний день пока еще не полностью ясны патогенные начала ишемического повреждения ткани и имеющиеся данные надо воспринимать как должное и как информа-

цию к возможному алгоритму процедур в клинических условиях. Из дальнейшего описания станет ясно, когда, в каком размере и в сочетании с какими действиями можно осуществлять восстановление кровотока после его остановки, будь-то в случае, когда его остановка была вызвана плановыми действиями (например, при хирургическом вмешательстве, сопровождаемом временным отключением органа от кровотока), или при неожиданной окклюзии сосуда разного генеза. Сколько орган или его часть находились в состоянии гипоксии? Является ли критическим для определения поведения клинициста, стремящегося, с одной стороны, сохранить объекту жизнь, а с другой — минимизировать последствия патогенного воздействия ишемии и в какой-то мере гарантировать отсутствие полной инвалидности.

Конечно, теоретический посыл, стоящий в основе патогенеза ишемического повреждения ткани, крайне важен для будущего развития фундаментальной и прикладной медицины, однако сегодня важен практический аспект, основанный пусть на скудных, но важных, доказанных элементах знаний по вышеуказанной проблеме. Сейчас не вызывает сомнений, что именно митохондрии должны быть в центре внимания исследователей, занимающихся данной проблемой. Их роль как основных поставщиков энергии является одной из определяющих в клетке, хотя при рассмотрении митохондриальной роли в регуляции гибели энергетическая компонента наверно не является определяющей, что свидетельствует о множественности функций этой внутриклеточной органеллы [9, 22]. Уже доказанным является участие митохондрий в программируемой гибели клетки. Есть мысли и подтверждение тому, что митохондрии могут определять функционирование органа и вообще отвечать за гибель организма, хотя это на сегодняшний день в значительной мере гипотетично [23]. Генерация митохондриями химических сигналов, которые могут быть иногда витальными, иногда убийственными, на сегодня доказана и эти доказательства не входят в круг задач данного обзора. Вкупе с вышесказанным в большей мере мы ставили задачу рассмотрения тех свойств митохондрий, которые определяют их способность принимать участие в адаптивных ответах и гарантировать уменьшение патогенного действия стрессорных воздействий.

Оказалось, что митохондрия может быть поставлена в центр сигнальных защитных путей [24]. Все пути направлены на защиту митохондриальной структуры, отвечающей за индукцию так называемой неспецифической проницаемости (поры) митохондрий, явления, известного достаточно давно [25] и привлекающего своей загадочностью, впоследствии доказанного как необходимого [26, 27]. Упрощенно можно сказать, что для активации (желательной или нежелательной) гибели клетки необходимо активировать эту митохондриальную систему. Это означает, что для предотвращения нежелательной гибели клетки (в частности, сопряженной с ишемическим повреждением ткани) надо предотвратить активацию этого митохондриального комплекса. Структура этого комплекса еще недавно, казалось, была ясна, но работы последних лет показали недостаточность и не уместность этих данных [27]. Однако до полного решения вопроса об идентичности и материальной основе этой структуры один элемент, который отвечает за активацию/деактивацию этого комплекса, был выяснен. Именно на этом элементе, как оказалось, и сходятся множество защитных сигнальных путей, запускаемых клеткой [24]. Название этого фермента (киназа гликогенсинтазы-3 β) отнюдь не отражает ширину функций этого фермента, который фосфорилирует не только гликогенсинтазу, но

и целый ряд других белков, в частности входящих в состав комплекса, отвечающего за индукцию неспецифической проницаемости митохондрий. По определению активация этой киназы (при дефосфорилировании серина в 9-м положении полипептидной цепи) способствует активации неспецифической поры, а ингибирование ее активности (при фосфорилировании серина 9) препятствует генерации митохондриальной поры [12]. Таким образом, для предотвращения программируемой гибели клетки, идущей с участием митохондрий, необходимо удержание этой киназы в фосфорилированном состоянии, что является некоторой основой для постановки практической задачи по недопущению клеточной гибели органа-мишени. Такая предпосылка явно упрощает практическую задачу защиты органа при минимальном знании всей структуры и архитектуры сигнальных защитных и деградирующих путей. При такой постановке задачи целью становится поиск наиболее эффективных и нетоксичных ингибиторов киназы гликогенсинтазы 3 β в целях сохранения (не допущения) клеточной гибели, идущей с участием митохондрий, что определяет перенос проблемы из фундаментального поля на поле фармакологическое. На сегодняшний день современной науке известен достаточно мощный ингибитор киназы гликогенсинтазы-3 β . На удивление исследователей им оказался фармакологический препарат, основу которого составляют соли лития [28], использующийся более 60 лет в клинической практике для лечения маниакальных и гипоманиакальных фаз биполярного аффективного расстройства, а также профилактики его депрессивных фаз и периодических депрессий [29].

В последние годы накапливается все больше данных подтверждающих нейро-, кардио- и нефропротекторные свойства солей лития, возрождая интерес к этому препарату, в настоящее время крайне редко используемому, да и то только в психиатрии. Вместе с тем исследования, проведенные в различных лабораториях на значительном наборе клеточных и животных моделей заболеваний, связанных с острым нарушением кровообращения, подтверждают мнение, что Li⁺ обладает выраженными защитными свойствами [30].

В свете вышесказанного мы считаем, что препараты на основе ионов лития требуют проведения клинических испытаний для предупреждения и лечения заболеваний, связанных с острым нарушением кровообращения и последующим восстановлением кровотока: острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, постгипоксическая энцефалопатия и т. д.

На самом деле поиск фармакологических агентов, работающих на терминальном участке защитных сигнальных путей, есть некоторое упрощение системы, которая в организме реализуется в виде всего набора сигнальных защитных путей, по крайней мере часть из которых (или все они вместе) активируется при так называемом ишемическом (гипоксическом) прекодиционировании. Этим термином принято называть адаптивные механизмы, возникающие при воздействии стрессорных механизмов в таких дозах, которые в конечном счете придают системе толерантность к этому виду стресса. Если речь заходит об ишемическом прекодиционировании, то адаптация приводит к появлению ишемической толерантности. Было обнаружено, что природные защитные механизмы, возникающие в результате адаптации (прекодиционирования), являются самыми эффективными и пока еще несравнимыми по эффективности с фармакологическими препаратами, также обеспечивающими прекодиционирование (в данном случае фармакологическое прекодиционирование) биологической системы.

Большим открытием явилось обнаружение оптимального протокола ишемического (гипоксического) preconditionирования органов, состоящего из серий перемежающихся эпизодов гипоксии и реоксигенации (обычно 2—4 эпизода по 5 мин каждый) [31]. Уменьшение числа эпизодов до одного, равно как и снижение времени воздействия гипоксии и нормоксии, не приводило к желаемым эффектам адаптации, а увеличение времени воздействия приводило к нежелательным повреждающим эффектам [32]. Это свидетельствовало о том, что гипоксия в ткани запускала одновременно как защитные, так и смертельные сигнальные каскады (что является обычным при стрессорных воздействиях) и для того, чтобы защитные каскады активировались и преобладали над деструктивными, необходимо такое узкое временное окно воздействия, которое было предложено в протоколе гипоксического preconditionирования. Возвращаясь к нашим рассуждениям, высказанным раньше относительно временного окна, определяющего необратимость и губительность ишемического воздействия, можно предположить кардинальное изменение метаболизма при кратковременном и длительном действии ишемии, требующей индивидуального подхода к терапии при том или ином воздействии ишемии.

Ишемическое preconditionирование органов, несмотря на убедительную экспериментальную доказательную базу и ожидания, не нашло широкого клинического применения. Постишемическое кондиционирование по тому же протоколу, что и preconditionирование, было эффективным методом, позволяющим значительно уменьшить уровень ишемического повреждения ткани [33, 34]. Следовательно, протокол из нескольких эпизодов гипоксии, перемежающихся с нормоксией, был эффективной и практически полезной мерой защиты органа, только что пережившего ишемический инсульт. Кроме того, во всех случаях время воздействия кратковременной ишемии критично, равно как и важно время длительности глобальной ишемии, но и временное окно, в течение которого можно обеспечить постишемическое кондиционирование, должно быть максимально малым, так как деструктивные процессы, зарождающиеся в гипоксической ткани, могут достичь точки невозврата, когда никакие меры ни физиологического, ни фармакологического воздействия не смогут оказать никакого положительного действия, и это как практикующим клиницистам, так и простым обывателям давно ясно даже без понимания молекулярных механизмов перестройки биологической системы.

При выяснении архитектуры взаимодействия сигнальных защитных путей отмечено, что фармакологические агенты, обеспечивающие preconditionирование, делятся на две группы по механизмам, связанным с набуханием митохондрий или независимых от него, а все воздействия, обладающие способностью preconditionирования, можно разделить по типу передачи сигнала на 2 механистические категории: с малой "памятью" и с длительной "памятью" (в оригинале — "memory-associated signaling" и "memory-lacking signaling" соответственно, причем в данном контексте термин "память" не подразумевает функцию высшей нервной деятельности). Под длительной "памятью" понимают повышение устойчивости клетки, которое формируется в кратчайшие сроки от момента воздействия стимула и длится в течение нескольких часов, а иногда и суток. В свою очередь малая "память" обуславливает краткосрочную защиту, исчезающую вместе или в течение 10—15 мин после прекращения воздействия стимула. Ишемическое, анестетическое (применение современных ингаляционных анестетиков) и некоторые

виды фармакологического preconditionирования через каскад киназ запускают длительную "память", связанную с повышением потока K^+ внутрь митохондрии и/или его удержанием с последующим набуханием митохондриального матрикса. Следствием этого являются активация дыхания и выработка "сигнальных" АФК, активация ими ближайшего пула протеинкиназы С и передача сигнала на киназу гликогенсинтазы-3 β . Помимо этого, сигнал с протеинкиназы С обеспечивает сохранение механизма защиты через каскадную петлю положительной обратной связи, за счет чего митохондриальный АТР-зависимый K^+ -канал удерживается в открытом состоянии [35]. Это подтверждает роль митохондриальных АТР-зависимых K^+ -каналов не только как активаторов, но и медиаторов клеточной защиты вследствие чего фосфорилированная киназа гликогенсинтазы-3 β передает нисходящий сигнал, повышающий порог чувствительности неспецифической митохондриальной поры к АФК, необходимым для ее открытия [23].

Механизм малой "памяти", который активирует инсулин, инсулиноподобный фактор роста, Li^+ , эритропоэтин, связан с воздействием на фосфоинозитол-3-киназу, протеинкиназы А, В, G, С и их мишени, включая киназу гликогенсинтазы-3 β . Этот механизм не связан с набуханием митохондрий, но все равно в итоге он заключается в повышении порога чувствительности митохондриальной поры к АФК.

Не только фармакологическое preconditionирование обладает двумя "окнами" эффективности — коротким и отсроченным, но и ишемическое preconditionирование также характеризуется двумя эффективными временными "окнами", в пределах которых обеспечивается защита органа. Похоже, эти данные могут иметь практическое значение, поскольку процесс preconditionирования обеспечивает достаточно эффективную защиту, которая неоднородно распределена во времени и за исчезновением первого защитного временного окна может следовать относительно "слепая" зона отсутствия защиты до тех пор, пока не запустится второе защитное временное "окно". Длительная "память" наблюдалась при применении фармакологических агентов, в механизме действия которых принимали участие АФК, а более короткая "память" была характерна для агентов, в механизме которых АФК участия не предпринимали. Из этого следует еще один практический вывод о недопущении приема антиоксидантов при реализации ишемического preconditionирования, так как они априори ликвидируют одну из двух защитных сигнальных систем [32].

Исходя из описанных механизмов ишемического preconditionирования, становится понятным возможное направление поиска фармакологических средств preconditionирования. Совершенно очевидно, что это препараты должны по конечному результату имитировать ишемическое preconditionирование и включать в себя однородные защитные сигнальные каскады. Использование агентов, имитирующих ишемическое preconditionирование, кажется очень многообещающим в экспериментальных исследованиях. В качестве примеров можно привести такие агенты, как аденозин, агонисты рецепторов аденозина, агонисты протеинкиназы С, препараты, открывающие АТР-зависимые K^+ -каналы, доноры оксида азота [36]. Внедрение этих полезных средств в клиническую область часто осложнено тем, что многие из них имеют выраженное влияние на гемодинамику. Имеются нежелательные побочные эффекты, такие как возникновение гипотензии (аденозин), аритмии (аденозин, вещества, открывающие K_{ATP} -каналы), возможные канцерогенные эффекты (активаторы протеинкиназы).

Несмотря на это, некоторые средства, имитирующие ишемическое preconditionирование, уже используются в клинике, хотя их применение не базируется на концепции preconditionирования. Препарат никорандил (Nicorandil), открывающий K_{ATP} -каналы, в клинике используется как антиангинальный препарат [37], а аденозин показал себя перспективным как дополнение к кардиоплегии. В последнем случае, как было показано, уменьшается потребность в использовании больших доз инотропных препаратов после кардиохирургических операций [38]. Аденозин также тестировался как дополнение к реперфузии у пациентов с острым инфарктом миокарда. В клиническом исследовании [39] аденозин уменьшал размер инфаркта у больных с инфарктом передней стенки миокарда. Имеется ли связь пользы аденозина с механизмом preconditionирования не ясно, потому что лекарственное средство давалось не перед окклюзией, а в процессе реперфузии. Известно, что ингаляционные анестетики снижают потребление миокардом кислорода, что благотворно сказывается на кислородном балансе во время периоперационной ишемии миокарда. Однако оказалось, что основной защитный эффект ингаляционных анестетиков на миокард объясняется их влиянием на эндогенные протекторные системы клетки, молекулярные механизмы которых удивительным образом схожи с феноменом ишемического preconditionирования. Этот эффект был назван фармакологическим preconditionированием ингаляционными анестетиками или анестетическим preconditionированием [40]. Дальнейшие экспериментальные исследования показали, что ингаляционные анестетики, так же как и ишемическое preconditionирование, оказывают протекторный эффект на мозг, почки, легкие, печень, кишечник [41]. На сегодняшний день важно подчеркнуть, что различные протоколы анестетического preconditionирования находят широкое клиническое применение как в кардиальной, так и в некардиальной хирургии, хотя клиническая значимость защитных эффектов ингаляционных анестетиков продолжает широко обсуждаться в литературе [42, 43].

Антиоксиданты

Поскольку именно АФК считаются одним из основных факторов, запускающих механизм гибели клеток и нарушения функции органа при различных ишемических патологиях, то очевидно решающим для выживания или восстановления функции клеток является предотвращение синтеза АФК или их нейтрализация.

Одной из основных групп фармакологических препаратов, применяемых с этой целью, являются антиоксиданты. В эту группу объединены препараты различной природы и механизмов действия, влияющие в конечном итоге на процессы свободнорадикального окисления клеточных структур и биомолекул, прежде всего перекисного окисления мембранных фосфолипидов.

В состав этой группы препаратов входят ферменты, нейтрализующие АФК (супероксиддисмутаза, пероксидаза, каталаза), жирорастворимые антиоксиданты, нейтрализующие перекиси липидов, такие как альфа-токоферол и ионол, водорастворимые антиоксиданты с окислительно-восстановительными свойствами, способные восстанавливать металлы с переходной валентностью (глутатион, аскорбиновая кислота, коэнзим Q), вещества, связывающие эти металлы (деферроксамин) и другие соединения.

Из ферментативных антиоксидантов наибольшее внимание исследователей привлекала супероксиддисмутаза, участвующая в нейтрализации супероксид-анион-радикала, являющегося предшественником высокотоксичного

гидроксильного радикала кислорода, активно взаимодействующего с белками, липидами и нуклеиновыми кислотами клетки и изменяющего их физико-химические и функциональные параметры.

Антирадикальные препараты природного происхождения — это прежде всего токоферолы. Наибольшей активностью из них обладает витамин Е. Он представляет собой жирорастворимое соединение, поэтому основная его локализация — гидрофобный слой мембран. Хотя он может реагировать с радикалами различной природы, в том числе с радикалами кислорода, главным образом взаимодействует с радикалами жирных кислот [44].

Альфа-токоферол и его производные хорошо изучены в качестве противоишемических средств в эксперименте и клинике. К недостаткам альфа-токоферола следует отнести то, что он является жирорастворимым соединением и его антиоксидантное действие реализуется лишь спустя несколько часов после введения, а максимум эффективности наступает через 17—24 ч. Из-за липофильности его невозможно вводить внутривенно и добавлять в перфузионные среды [45].

Другим изучаемым препаратом антиоксидантного действия является аллопуринол, который представляет собой структурный аналог гипоксантина и оказывает ингибирующее влияние на ксантиноксидазу, катализирующую превращение гипоксантина в ксантин и ксантина в мочевую кислоту [56]. Противоишемический эффект этого препарата связывают главным образом с подавлением генерации АФК, образующихся в ксантиноксидазной реакции.

Другим подходом к осуществлению антиоксидантной защиты при окислительном стрессе является использование препаратов, связывающих ионы металлов с переходной валентностью, в частности железа, являющихся мощными катализаторами продукции гидроксильных радикалов. Таким препаратом является деферроксамин, имеются данные о его защитном действии при тепловой ишемии почки крысы [47] и миоглобинурии [48].

Таким образом, имеется широкая экспериментальная база, доказывающая положительное действие антиоксидантов различной природы при патологиях, спровоцированных окислительным стрессом.

Следует также отметить принципиально новое направление разработки антиоксидантов для терапии заболеваний, связанных с окислительным стрессом, — создание антиоксидантов, направленно доставляемых в митохондрии (для обзора см. [49]). В основе этих разработок лежит представление о том, что антиоксидант должен быть не просто оперативно доставлен в подверженный окислительному стрессу орган, важной особенностью является также его внутриклеточная локализация, а именно способность антиоксидантных препаратов быстро и избирательно транспортироваться в митохондрии — места преимущественной генерации АФК. Эффективность транспорта антиоксидантных веществ через клеточные мембраны, в том числе митохондриальные, достигается объединением антиоксиданта с "локомотивом", гидрофобной молекулой, обладающей делокализованным положительным зарядом, за счет которого вся конструкция закачивается в отрицательно заряженный матрикс митохондрии (см. рисунок).

К настоящему моменту известно крайне ограниченное количество биологически активных соединений, адресно доставляемых в митохондрии за счет энергии трансмембранного митохондриального потенциала. К таким веществам можно отнести, митохондриально-адресованный антиоксидант MitoQ (см. рисунок) и его варианты (MitoQ5, MitoQ3). Данные вещества представляют собой убихинон

(убихинол в восстановленной форме), соединенный с трифенилфосфонием через С-10-линкерную группу (С-5, С-3 соответственно). В описании изобретения MitoQ заявлен как действующее вещество композиций, предназначенных для лечения и профилактики заболеваний, связанных с окислительным стрессом. Другое вещество — митохондриально-адресованный миметик глутатион пероксидазы эбселен заявлен как средство лечения негативных последствий реперфузии ишемизированной ткани, инфаркта и как препарат, применяемый в хирургии и трансплантологии.

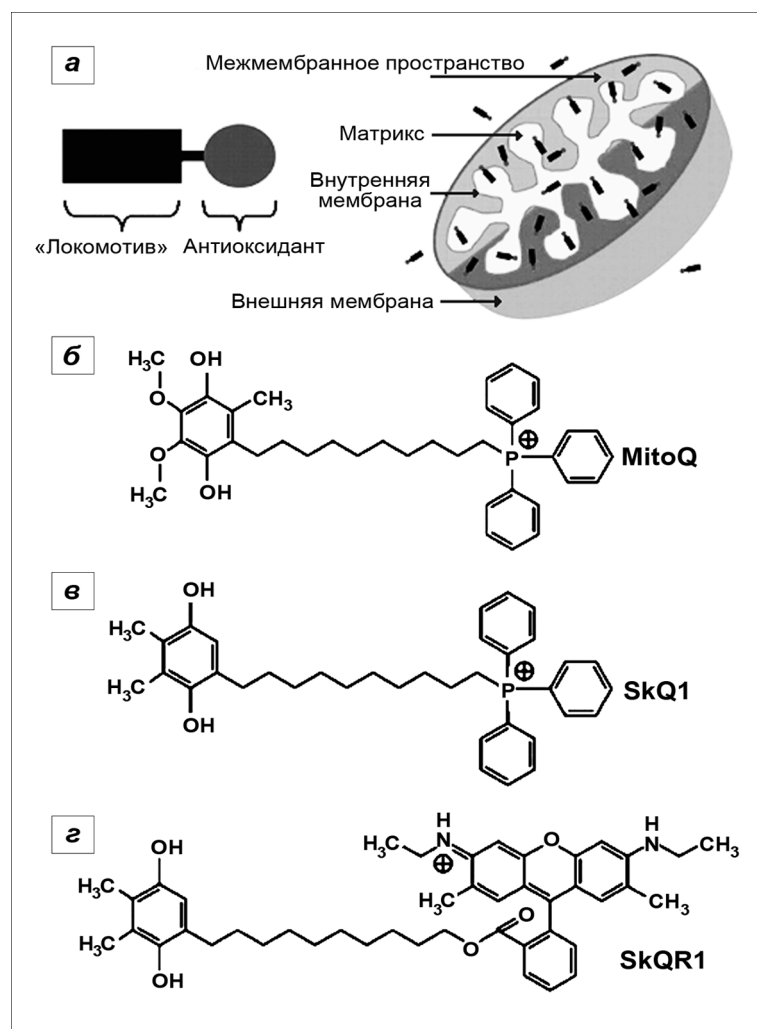
В работе [50] приведен пример положительного действия MitoQ на изолированное, перфузируемое по Лангендорфу сердце крысы, подвергнутое ишемии и реперфузии после скормливания этого вещества животным в течение 14 сут. Другим примером эффективного влияния MitoQ явилось использование его при полиорганной недостаточности, вызванной сепсисом [51]. Было найдено, что MitoQ подавляет высвобождение провоспалительных цитокинов, одновременно повышая продукцию противовоспалительного интерлейкина-10. На модели сепсиса, индуцированного липополисахаридами, MitoQ снижал уровни маркеров повреждения печени и восстанавливал функции почки, а также предупреждал падение трансмембранного потенциала в митохондриях клеток большинства органов.

Группой В.П. Скулачева было разработано и опробовано семейство новых митохондриально-адресованных антиоксидантов на основе пластохинонов (см. рисунок) под общим названием SkQ [52].

Трансмембранный потенциал на митохондриальной мембране является движущей силой накопления этих антиоксидантов в митохондриях в концентрациях многократно превышающих их уровень в цитоплазме или межклеточном пространстве [53], что делает их уникальным инструментом удаления АФК непосредственно в месте их образования без оказания системного влияния на организм, вызываемого большими дозами вводимых антиоксидантов.

Окислительный стресс в почечной ткани, как и других органах, запускает самоподдерживающийся и амплифицирующий цикл, приводящий к прогрессирующему повреждению почки, тогда как антиоксиданты способны прервать развитие цепных свободнорадикальных реакций, снизить выраженность окислительного стресса и последующих морфологических, биохимических и функциональных повреждений почки. При этом в основе действия антиоксидантов лежат разные механизмы, действующие на различные этапы развития почечной дисфункции, и необходимы их дальнейшее тщательное изучение и разработка новых способов повышения эффективности антиоксидантной защиты при почечных болезнях.

Опираясь на эти соображения, работы последних лет показали, что адресная доставка в митохондрию веществ, проявляющих антиоксидантные свойства, является перспективным направлением разработки нефропротекторов и нейропротекторов. Митохондриально-направленный антиоксидант SkQR1 обладает выраженным защитным действием при моделировании ишемической острой почечной недостаточности *in vivo* и предотвращает развитие почечной недостаточности, развивающейся после ишемии/реперфузии единственной почки у экспериментальных животных.



Концепция направленной доставки антиоксидантов в митохондрии (а) и примеры митохондриально-адресованных антиоксидантов, синтезированных в группе Murphy (б) и группе В.П. Скулачева (в, з).

SkQR1 давал выраженный терапевтический эффект как в модели 40-минутной ишемии/реперфузии [54], так и при повреждении почки в результате 90-минутной ишемии [55] и последующей реперфузии. Стало ясно, что защитное действие SkQR1 реализуется прежде всего через предупреждение патологических событий, развивающихся во время реперфузии, но также и через ряд других сигнальных систем [56]. Исследования механизмов нефропротекторного действия SkQR1 показали, что в первую очередь к ним относится прямое антиоксидантное действие соединения. Под влиянием SkQR1 наблюдалась нормализация метаболизма АФК на ранних сроках реперфузии органа. Предотвращение гиперпродукции митохондриальных АФК, по всей видимости, является ключевым звеном в нефропротекторном действии SkQR1. Однако, кроме присущих ему антиоксидантных свойств, это соединение оказывало выраженное действие на сигнальные пути, связанные с воспалением. Так, был обнаружен терапевтический эффект SkQR1 при остром экспериментальном пиелонефрите [57], выражающийся в снижении окислительного повреждения ткани почки, уменьшении системных и локальных признаков воспаления и смерти животных от сепсиса при остром пиелонефрите.

Аналогичные данные были получены при исследовании нейропротекторных свойств митохондриаль-

но-адресованных антиоксидантов семейства SkQ. Было выявлено, что SkQR1 дает выраженный защитный эффект при моделировании *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* ишемии и травмы головного мозга, болезни Альцгеймера, возрастного изменения функций мозга. Стало ясно, что SkQR1 предотвращает развитие неврологического дефицита после ишемии/реперфузии головного мозга у экспериментальных животных [58]. Кроме этого, SkQR1 оказывает терапевтическое действие при моделировании болезни Альцгеймера как в модели нарушения длительной потенциации, вызываемой бета-амилоидом [59], так и на линии крыс OXYS, имеющих дефекты метаболизма, приводящие к повышенной продукции свободных радикалов и накоплению бета-амилоида в паренхиме мозга [60].

Предполагается, что действие митохондриально-направленного антиоксиданта SkQR1 объединяет в себе две концепции цитопротекции — предупреждение окислительного стресса, берущего начало в митохондриальном ретикулуме, и мобилизацию антиоксидантных механизмов толерантности к ишемическому повреждению.

В настоящее время семейство препаратов на основе SkQ прошло стадию экспериментальных исследований и готовится к клиническим испытаниям. Напрашивается и первая область применения нового класса соединений — это анестезиология-реаниматология. Хочется надеяться, что высокая эффективность, показанная препаратами на основе SkQ на различных моделях ишемии-реперфузии в эксперименте, будет подтверждена и в клинике.

Работа частично поддержана грантами РФФИ 14-04-00300, 14-04-00542, 13-04-00484 и грантом Президента РФ МК-2508.2014.4

REFERENCES. *ЛИТЕРАТУРА

- Mangano D.T., Browner W.S., Hollenberg M., London M.J., Tubau J.F., Tateo I.M. Association of perioperative myocardial ischemia with cardiac morbidity and mortality in men undergoing noncardiac surgery. The study of perioperative ischemia research group. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323: 1781—8.
- Gusev E.I., Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V. Problems affiliated with insults in the Russian Federation: it's time for an active cooperative action. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2007; 107: 4—10. (in Russian)
- Shohami E., Gati I., Beit-Yannai E. Closed head injury in the rat induces whole body oxidative stress: overall reducing antioxidant profile. *J. Neurotrauma.* 1999; 16: 365—76.
- Himmelfarb J., Ikizler T.A. Acute kidney injury: changing lexicography, definitions, and epidemiology. *Kidney Int.* 2007; 71: 971—6.
- Schneider A., Bottiger B.W., Popp E. Cerebral resuscitation after cardiocirculatory arrest. *Anesth. Analg.* 2009; 108: 971—9.
- Cadenas E., Sies H. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. *Adv. Enzyme Regul.* 1985; 23: 217—37.
- Braunwald E., Kloner R.A. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J. Clin. Invest.* 1985; 76: 1713—9.
- Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002; 82: 47—95.
- Zorov D.B., Bannikova S.Ju., Belousov V.V., Vysokih M.Ju., Zorova L.D., Isaev N.K. et al. Active forms of oxygen-are they our friends or enemies? *Biohimija.* 2005; 70 (2): 215—21. (in Russian)
- Zorov D.B., Isaev N.K., Plotnikov E.Ju., Silachev D.N., Zorova L.D., Pevzner I.B. et al. Perspectives of the mitochondrial medicine. *Biokhimiya.* 2013; 78 (9): 1251—64. (in Russian)
- Rajasekaran N.S., Connell P., Christians E.S., Yan L.J., Taylor R.P., Orosz A. et al. Human alpha B-crystallin mutation causes oxidative stress and protein aggregation cardiomyopathy in mice. *Cell.* 2007; 130: 427—39.
- Plotnikov E.Y., Kazachenko A.V., Vyssokikh M.Y., Vasileva A.K., Tcvirkun D.V., Isaev N.K. et al. The role of mitochondria in oxidative and nitrosative stress during ischemia/reperfusion in the rat kidney. *Kidney Int.* 2007; 72: 1493—502. (in Russian)
- Benveniste H., Drejer J., Schousboe A., Diemer N.H. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J. Neurochem.* 1984; 43 (5): 1369—74.
- Isaev N.K., Zorov D.B., Stelmashook E. V., Uzbekov R.E., Victorov I. V. Neurotoxic glutamate treatment of cultured cerebellar granule cells induces Ca²⁺-dependent collapse of mitochondrial membrane potential and ultrastructural alterations of mitochondria. *FEBS Lett.* 1996; 392: 143—7. (in Russian)
- Schumacker P.T. Hypoxia, anoxia, and O₂ sensing: the search continues. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2002; 283: 918—21.
- Waypa G.B., Schumacker P.T. O₂ sensing in hypoxic pulmonary vasoconstriction: the mitochondrial door re-opens. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2002; 132: 81—91.
- Hearse D.J., Garlick P.B., Humphrey S.M. Ischemic contracture of the myocardium: mechanisms and prevention. *Am. J. Cardiol.* 1977; 39: 986—93.
- Zorov D.B., Filburn C.R., Klotz L.O., Zweier J.L., Sollott S.J. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 1001—14.
- Ratych R.E., Bulkley G.B. Free-radical-mediated postischemic reperfusion injury in the kidney. *J. Free. Radic. Biol. Med.* 1986; 2 (5—6): 311—9.
- McCord J.M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.* 1985; 312 (3): 159—63.
- Hess M.L., Manson N.H. Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1984; 16 (11): 969—85.
- Zorov D.B., Krasnikov B.F., Kuzminova A.E., Vysokih M.Yu., Zorova L.D. Mitochondria revisited. Alternative functions of mitochondria. *Biosci. Rep.* 1997; 17 (6): 507—20. (in Russian)
- Zorov D.B., Plotnikov E.Ju., Jankauskas S.S., Isaev N.K., Silachev D.N., Zorova L.D. et al. The phenoptosis problem: what is the main reason of patient death? The renal failure lessons. *Biohimija.* 2012; 77 (7): 893—906. (in Russian)
- Juhaszova M., Zorov D.B., Kim S.H., Pepe S., Fu Q., Fishbein K.W. et al. Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J. Clin. Invest.* 2004; 113: 1535—49.
- Hunter D.R., Haworth R.A. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms. *Arch. Biochem. Biophys.* 1979; 195: 453—9.
- Zoratti M., Szabo I. The mitochondrial permeability transition. *Biochim. Biophys. Acta.* 1995; 1241: 139—76.
- Zorov D.B., Juhaszova M., Yaniv Y., Nuss H.B., Wang S., Sollott S.J. Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc. Res.* 2009; 83: 213—25.
- Stambolic V., Ruel L., Woodgett J.R. Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 activity and mimics wingless signalling in intact cells. *Curr. Biol.* 1996; 6 (12): 1664—8.
- Pilcher H.R. Drug research: the ups and downs of lithium. *Nature.* 2003; 425 (6954): 118—20.
- Moroz V.V., Silachev D.N., Plotnikov E.Ju., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A. et al. Mechanism of destruction and protection of the cell from ischemic-reperfusion process; experimental arguments of using lithium-based drugs in anesthesiology. *Obschaya reanimatologiya.* 2013; 9 (1): 63—72. (in Russian)
- Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986; 74: 1124—36.
- Juhaszova M., Rabuel C., Zorov D.B., Lakatta E.G., Sollott S.J. Protection in the aged heart: preventing the heart-break of old age? *Cardiovasc. Res.* 2005; 66 (2): 233—44.
- Zhao Z.Q., Corvera J.S., Halkos M.E., Kerendi F., Wang N.P., Guyton R.A. et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic preconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2003; 285 (2): 579—88.
- Argaud L., Gateau-Roesch O., Raitsky O., Loufouat J., Robert D., Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation.* 2005; 111 (2): 194—7.
- Costa A.D., Garlid K.D. Intramitochondrial signaling: interactions

- among mitoKATP, PKCepsilon, ROS, and MPT. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2008; 295 (2): 874—82.
36. Cohen M.V., Baines C.P., Downey J.M. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP channel. *Annu. Rev. Physiol.* 2000; 62: 79—109.
 37. Dana A., Yellon D.M. ATP dependent K⁺ channel: a novel therapeutic target in unstable angina. *Eur. Heart. J.* 1999; 20: 2—5.
 38. Mentzer R.M. Jr, Rahko P.S., Molina-Viamonte V., Canver C.C., Chopra P.S., Love R.B. et al. Safety, tolerance, and efficacy of adenosine as an additive to blood cardioplegia in humans during coronary artery bypass surgery. *Am. J. Cardiol.* 1997; 79: 38—43.
 39. Mahaffey K.W., Puma J.A., Barbagelata N.A., DiCarli M.F., Leeser M.A., Browne K.F. et al. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine (AMISTAD) trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 34: 1711—20.
 40. Cason B.A., Gamperl A.K., Slocum R.E., Hickey R.F. Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology.* 1997; 87: 1182—90.
 41. Minguer G., Joris J., Lamy M. Preconditioning and protection against ischaemia-reperfusion in non-cardiac organs: a place for volatile anaesthetics? *Eur. J. Anaesth.* 2007; 24 (9): 733—45.
 42. De'Hert S., Vlasselaers D., Barbe R., Ory J.-P., Dekegel D., Donnadonni R. et al. A comparison of volatile and non volatile agents for cardioprotection during on-pump coronary surgery. *Anaesthesia.* 2009; 64 (9): 953—60.
 43. Likhvantsev V.V., Grebenchikov O.A., Shmeleva E.A., Skripkin Yu.V. Anesthetic preconditioning: why the experimental results can not be applied to a clinical practice. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii.* 2013; 10 (4): 9—14. (in Russian)
 44. Liebler D.C., Kling D.S., Reed D.J. Antioxidant protection of phospholipid bilayers by alpha-tocopherol. Control of alpha-tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *J. Biol. Chem.* 1986; 261: 121—49.
 45. Nadtochiy O.N. Prophylaxis of postischemic functional renal disturbances after operations with temporary renal ischemia: *Diss. Moscow; 2000.* (in Russian)
 46. Rhoden E., Teloken C., Lucas M., Rhoden C., Mauri M., Zettler C. et al. Protective effect of allopurinol in the renal ischemia-reperfusion in uninephrectomized rats. *Gen. Pharmacol.* 2000; 35: 189—93.
 47. Haraldsson G., Sorensen V., Nilsson U., Pettersson S., Rashid M., Schersten T. et al. Effect of pre-treatment with desferrioxamine and mannitol on radical production and kidney function after ischemia-reperfusion. A study on rabbit kidneys. *Acta. Physiol. Scand.* 1995; 154: 461—8.
 48. Chander V., Singh D., Chopra K. Attenuation of glycerol-induced acute renal failure in rats by trimetazidine and deferoxamine. *Pharmacology.* 2003; 67: 41—8.
 49. Hoyer A.T., Davoren J.E., Wipf P., Fink M.P., Kagan V.E. Targeting mitochondria. *Acc. Chem. Res.* 2008; 41: 87—97.
 50. Adlam V.J., Harrison J.C., Porteous C.M., James A.M., Smith R.A., Murphy M.P. et al. Targeting an antioxidant to mitochondria decreases cardiac ischemia-reperfusion injury. *FASEB J.* 2005; 19 (9): 1088—95.
 51. Lowes D.A., Thottakam B.M., Webster N.R., Murphy M.P., Gallely H.F. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ protects against organ damage in a lipopolysaccharide-peptidoglycan model of sepsis. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 45: 1559—65.
 52. Skulachev V.P. A biochemical approach to the problem of aging: "megaproject" on membrane-penetrating ions. The first results and prospects. *Biochemistry.* 2007; 72: 1385—96.
 53. Rokitskaya T.I., Klishin S.S., Severina I.I., Skulachev V.P., Antonenko Y.N. Kinetic analysis of permeation of mitochondria-targeted antioxidants across bilayer lipid membranes. *J. Membr. Biol.* 2008; 224: 9—19.
 54. Plotnikov E.Yu., Silachev D.N., Chupyrkina A.A., Dan'shina M.I., Yankauskas S.S., Morosanov M.A. et al. The new generation of Skulachev-ions with nephro- and neuroprotective action. *Biokhimiya.* 2010; 75 (2): 177—184. (in Russian)
 55. Bakeeva L.E., Barskov I.V., Egorov M.V., Isaev N.K., Kapel'ko V.I., Kazachenko A.V. et al. Mitochondria-targeted plastoquinone derivative that stops the aging process. Therapy of some AFK depending elderly diseases (cardiac arrhythmias, myocardial and renal infarction, brain insults). *Biokhimiya.* 2008; 73 (12): 1607—21. (in Russian)
 56. Plotnikov E.Y., Chupyrkina A.A., Jankauskas S.S., Pevzner I.B., Silachev D.N., Skulachev V.P. et al. Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011; 1812: 77—86.
 57. Plotnikov E.Y., Morosanov M.A., Pevzner I.B., Zorova L.D., Mansikh V.N., Pulkova N.V. et al. Protective effect of mitochondria-targeted antioxidants in an acute bacterial infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110 (33): 3100—8.
 58. Silachev D.N., Isaev N.K., Pevzner I.B., Zorova L.D., Stelmashook E.V., Novikova S.V. et al. The mitochondria-targeted antioxidants and remote kidney preconditioning ameliorate brain damage through kidney-to-brain cross-talk. *PLoS One.* 2012; 7 (12): 515—53.
 59. Kapay N.A., Isaev N.K., Stel'mashuk E.V., Popova O.V., Zorov D.B., Skrebickiy V.G. et al. Mitochondria-targeted plastoquinone derivative antioxidant SkQR1 injected in vivo, stops β -amyloid caused long potentiation disturbances in hippocampus sections. *Biokhimiya.* 2011; 76 (12): 1695—9. (in Russian)
 60. Stefanova N.A., Muraleva N.A., Skulachev V.P., Kolosova N.G. Alzheimer's disease-like pathology in senescence-accelerated OX-YS rats can be partially retarded with mitochondria-targeted antioxidant SkQ1. *J. Alzheimer's Dis.* 2014; 38 (3): 681—94.
- * * *
- *2. Гусев Е.И., Сковцова В.И., Стаховская Л.В. Проблемы инсульта в Российской Федерации: время активных совместных действий. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2007; 107: 4—10.
 - *9. Зоров Д.Б., Банникова С.Ю., Белоусов В.В., Высоких М.Ю., Зорова Л.Д., Исаев Н.К. и др. Активные формы кислорода и азота: друзья или враги? *Биохимия.* 2005; 70 (2): 215—21.
 - *10. Зоров Д.Б., Исаев Н.К., Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б. и др. Перспективы митохондриальной медицины. *Биохимия.* 2013; 78 (9): 1251—64.
 - *23. Зоров Д.Б., Плотников Е.Ю., Янкаускас С.С., Исаев Н.К., Силачев Д.Н., Зорова Л.Д. и др. Фенопозная проблема: от чего гибнет организм? Уроки по почечной недостаточности. *Биохимия.* 2012; 77 (7): 893—906.
 - *30. Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А. и др. Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии-реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (1): 63—72.
 - *43. Лихванцев В.В., Гребенчиков О.А., Шмелева Е.А., Скрипкин Ю.В. Анестетическое прекодиционирование: Почему данные, полученные в эксперименте, не всегда подтверждаются в клинике? *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2013; 10 (4): 9—14.
 - *45. Надточий О.Н. Профилактика постишемических функциональных расстройств почки при операциях с временным прекращением почечного кровотока: *Дисс. М.; 2000.*
 - *54. Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Чупыркина А.А., Даньшина М.И., Янкаускас С.С., Моросанов М.А. и др. Новое поколение Скулачев-ионов обладающих выраженным нефро- и нейтропротекторным действием. *Биохимия.* 2010; 75 (2): 177—84.
 - *55. Бакеева Л.Е., Барсков И.В., Егоров М.В., Исаев Н.К., Капелько В.И., Казаченко А.В. и др. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. Терапия некоторых старческих патологий, опосредованных АФК (сердечной аритмии, инфарктов сердца и почки и инсульта головного мозга). *Биохимия.* 2008; 73 (12): 1607—21.
 - *59. Капай Н.А., Исаев Н.К., Стельмашук Е.В., Попова О.В., Зоров Д.Б., Скребицкий В.Г. и др. Митохондриально-адресованное производное пластохинона, антиоксидант SkQR1, введенный in vivo, предотвращает нарушение длительной потенциации, вызванное β -амилоидом в срезах гиппокампа. *Биохимия.* 2011; 76 (12): 1695—9.

Поступила 10.02.14
Received 10.02.14