

© А.В.Смирнов, О.Б.Нестерова, Р.В.Голубев, 2014
УДК 612.8.015

А.В. Смирнов^{1,2}, О.Б. Нестерова², Р.В. Голубев^{1,2}

ЯНТАРНАЯ КИСЛОТА И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ

ЧАСТЬ I. ЯНТАРНАЯ КИСЛОТА: МЕТАБОЛИТ И РЕГУЛЯТОР МЕТАБОЛИЗМА
ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

A. V. Smirnov, O. B. Nesterova, R. V. Golubev

SUCCINIC ACID AND ITS APPLICATION IN MEDICINE

PART I. SUCCINIC ACID: METABOLITE AND REGULATOR OF METABOLISM OF THE
HUMAN BODY

¹Научно-исследовательский институт нефрологии, ²кафедра и клиника пропедевтики внутренних болезней Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

В обзоре представлены современные данные о метаболизме янтарной кислоты в организме человека и ее роли в регуляции процессов метаболизма.

Ключевые слова: янтарная кислота, сукцинат, GPR91, митохондриальные дисфункции, оксидативный стресс.

ABSTRACT

The review presents the modern data about metabolism of succinic acid in the human body and its role in the regulation of metabolic processes.

Key words: succinic acid, succinate, GPR91, mitochondrial dysfunctions, oxidative stress.

Янтарная кислота – универсальный внутриклеточный метаболит организма человека

Янтарная (сукциновая) кислота $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ относится к группе двухосновных предельных карбоновых кислот. Концентрация янтарной кислоты в тканях составляет 500–800 мкмоль/л, а ее содержание в плазме крови значительно меньше и в физиологических условиях находится в пределах 2–20 мкмоль/л [1,2]. Впервые исследование содержания янтарной кислоты в организме человека было произведено Робертом Кохом в 1865 году, во время его обучения на медицинском факультете Геттингенского университета [3]. Янтарная кислота (ЯК) является малотоксичным соединением и не оказывает мутагенное и тератогенное действие [4, 5]. ЯК и ее соли (сукцинаты) представляют собой универсальный внутриклеточный метаболит, широко участвующий в обменных реакциях в организме. Значимость ЯК в клеточном обмене обусловлена ее участием в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК, цикл Кребса)

и процессах окислительного фосфорилирования.

Цикл Кребса – общий заключительный этап метаболизма углеводов, липидов и белков, в ходе которого осуществляется катаболизм ацетильных групп, находящихся в составе ацетилкофермента А (ацетил-КоА) [6]. Атомы водорода, высвобождающиеся в окислительно-восстановительных реакциях, доставляются в цепь переноса электронов при участии НАД- и ФАД-зависимых дегидрогеназ, в результате чего происходит образование 12 высокоэнергетических фосфатных связей: синтез 12 молекул аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) из аденозиндифосфорной кислоты (АДФ).

Окисление ацетильного остатка происходит в несколько стадий, образующих циклический процесс из 8 основных этапов [6]:

1. Конденсация ацетил-КоА и оксалоацетата с образованием цитрата.
2. Превращение цитрата в изоцитрат.
3. Превращение изоцитрата в α -кетоглутарат.
4. Окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата с образованием сукцинил-КоА – тиоэффира, содержащего высокоэнергетическую фосфатную связь.

Голубев Р.В. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, тел.: (812)234-57-36, e-mail: rgolubev@pochta.ru

5. Превращение сукцинил-КоА в сукцинат. Эту реакцию катализирует фермент сукцинаттиокиназа. Это единственная стадия цикла трикарбоновых кислот, в ходе которой генерируется высокоэнергетическая фосфатная связь на субстратном уровне. В митохондриях разрыв тиоэфирной связи сукцинил-КоА сопряжен с реакцией фосфорилирования гуанозиндифосфата (ГДФ) до гуанозинтрифосфата (ГТФ). С молекулы ГТФ концевая фосфатная группа может переноситься на молекулу аденозиндифосфата с образованием АТФ; эту обратимую реакцию катализирует фермент нуклеозиддифосфаткиназа.

6. Дегидрогенирование сукцината. Образовавшийся на предыдущем этапе сукцинат превращается в фумарат под действием фермента сукцинатдегидрогеназы. Это единственная дегидрогеназная реакция цикла Кребса, в ходе которой осуществляется прямой перенос водорода с субстрата на флавопротеин без участия НАД⁺.

7. Образование малата из фумарата.

8. Превращение малата в оксалоацетат.

ЯК является продуктом пятой и субстратом шестой реакции ЦТК. Окисление ЯК в шестой реакции цикла Кребса осуществляется с помощью специфического фермента – сукцинатдегидрогеназы, локализованного на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий, характерной особенностью которого является независимость его активности от соотношения окисленной и восстановленной форм НАДН/НАД⁺, что позволяет сохранить энергосинтезирующую функцию митохондрий в условиях гипоксии при нарушении НАД-зависимого дыхания клеток [4]. Ферменты ЦТК обнаруживаются и вне митохондрий, за исключением α -кетоглутарат- и сукцинатдегидрогеназы [6]. В исследованиях Ю.В. Наточина было установлено, что активность именно этих двух дегидрогеназ наиболее высока в клетках с высокой активностью Na, K-АТФазы, например, в восходящих отделах петли Генле и дистальных извитых канальцах, где происходит активный процесс реабсорбции натрия против градиента концентрации и, следовательно, наиболее велики затраты АТФ для работы ионного насоса [7].

Феномен активного окисления ЯК сукцинатдегидрогеназой получил название «монополизации дыхательной цепи», биологическое значение которого заключается в быстром ресинтезе АТФ клетками и повышении их антиоксидантной активности [8, 9]. Дыхательная цепь митохондрий имеет 4 мультиферментных комплекса, расположенных на внутренней митохондриальной мембране и

осуществляющих перенос электронов от донора (α -кетоглутарат, пируват, жирные кислоты) на кислородный акцептор: восстановленный НАД – коэнзим Q-оксидоредуктаза (комплекс 1), сукцинат – коэнзим Q-оксидоредуктаза (комплекс 2), коэнзим Q – цитохром С – оксидоредуктаза (комплекс 3) и цитохром С-оксидаза (комплекс 4). Последним, пятым компонентом дыхательной цепи является АТФ-синтетаза. Система окисления ЯК включает в себя 2, 3-й и 4-й комплексы [10]. В условиях гипоксии, когда развивается дефицит НАД-зависимых субстратов, что приводит к нарушению функционирования 1-го комплекса дыхательной цепи, ЯК поставляет электроны непосредственно на 2-й комплекс, обеспечивая тем самым бесперебойную работу дыхательной цепи и адекватность энергетического обмена в целом. Ингибирование комплекса 1 приводит также к деполаризации внутренней мембраны митохондрии, что сопровождается тяжелыми нарушениями трансмембранного транспорта и, в конечном счете, может явиться причиной гибели клетки [11]. Активация сукцинатом 2-го комплекса дыхательной цепи восстанавливает электрохимический градиент на митохондриальной мембране [11].

При изменениях энергетического баланса организма, в частности, при гипоксии и гипергликемии, происходит повышение содержания сукцината в крови [1, 12–14]. При гипоксии накопление сукцината происходит за счет снижения активности сукцинатдегидрогеназы и/или других ферментов в дыхательной цепи, а также за счет частичной реверсии ЦТК, при которой реакции 6–8-го этапов ЦТК идут в обратном направлении, от щавелевоуксусной кислоты до янтарной (рис. 1).

При гипергликемии также происходит уменьшение активности сукцинатдегидрогеназы за счет того, что в условиях высокой активности ЦТК вследствие перегруженности его субстратом возрастает протонный градиент на внутренней мембране митохондрий, что приводит к ингибированию всех 4 комплексов дыхательной цепи [14].

Выполняя каталитическую функцию по отношению к циклу Кребса, ЯК снижает концентрацию в крови других интермедиаторов цикла (лактата, пирувата, цитрата), накапливающихся в клетках на ранних стадиях гипоксии [4, 8].

В условиях стресса и гипоксии органов и тканей продукция эндогенного сукцината возрастает также за счет окислительного дезаминирования α -кетоглутаровой кислоты в печени [1]. В нервной ткани функционирует так называемый γ -аминобутиратный шунт (цикл Робертса), в ходе

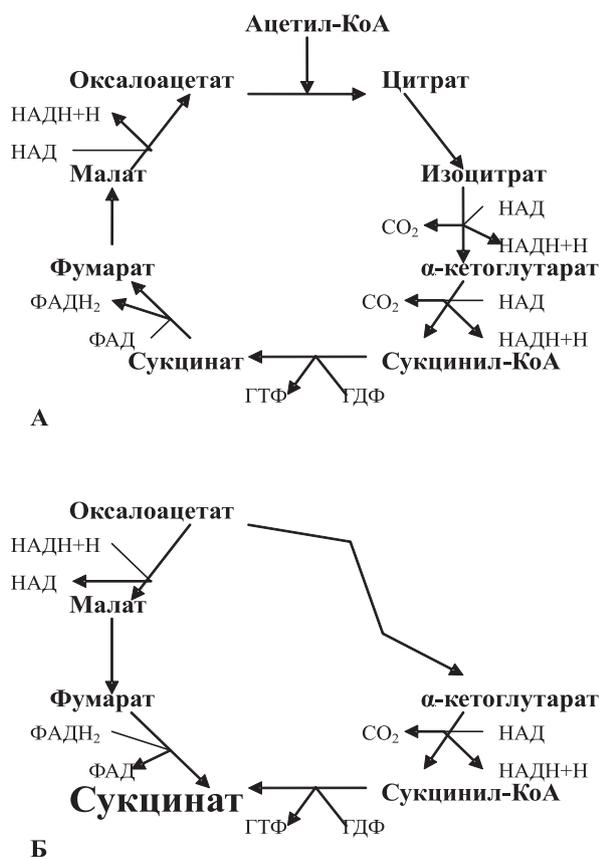


Рис. 1. Цикл трикарбоновых кислот в нормальных физиологических условиях (А) и в состоянии клеточного стресса (Б). По А.С. Ariza et al. (2012).

которого ЯК образуется из γ -аминомасляной кислоты через промежуточную стадию янтарного альдегида [15].

Антигипоксический эффект сукцината может быть связан не только с активацией сукцинатдегидрогеназного окисления, но и с восстановлением активности ключевого фермента окислительно-восстановительной активности митохондрий – цитохромоксидазы [16].

Повышение содержания сукцината в тканях и появление его в крови в случае функционирования митохондрий в анаэробных условиях позволяет предположить, что сукцинат может окисляться тканями не только когда он образуется и находится в матриксе митохондрий, но и в тех случаях, когда сукцинат попадает в кровь из участков аноксии и ишемии или поступает извне в составе пищи и лекарственных препаратов [17–19]. При обследовании добровольцев после перорального приема глюкозы и ЯК, меченных стабильным нерадиоактивным изотопом углерода-13, показано, что после приема ЯК углерод-13 в 3–4 раза быстрее, чем после приема глюкозы, выводится в виде выдыхаемого углекислого газа, что свидетельствует об активном включении в метаболизм введенного

в организм извне сукцината [20]. В эксперименте показано, что метаболизму подвергается более 90% введенного в клеточную среду сукцината, меченого изотопом углерода [21].

Таким образом, легкая окисляемость янтарной кислоты, массивный поток восстановительных эквивалентов от ЯК в дыхательную цепь митохондрий, возможность дополнительных путей «подтока» ЯК в цикл трикарбоновых кислот и шунтирование цикла в сторону образования ЯК, способность ЯК монополизовать дыхательную цепь делают этот субстрат незаменимым при энергетическом обеспечении организма.

Сукцинат как эндокринный стимул

Роль сукцината не ограничивается его участием в ЦТК и процессе окислительного фосфорилирования. Сукцинат является мощным эндокринным стимулом, что было показано в исследованиях последнего десятилетия. Во многих органах и тканях (почки, сердце, центральная нервная система, печень, жировая ткань и др.) экспрессированы специфические сукцинатные мембранные рецепторы, GPR91 или SUCNR1. В наибольшем количестве они представлены в различных отделах нефрона и юктагломерулярном аппарате почек, а также в жировой ткани. GPR91 относится к семейству G-протеиновых рецепторов [22].

G-протеиновые рецепторы имеют общую структуру, состоящую из трех компонентов: рецептор как таковой, состоящий из семи трансмембранных α -спиралей с внутриклеточным С-терминалом и внеклеточным N-терминалом, G-протеин, выступающий как передатчик сигнала и состоящий из двух субъединиц, и эффектор, в роли которого могут выступать либо ферменты (например аденилатциклаза), либо мембранные ионные каналы [23, 24]. Сукцинат является лигандом для одного из рецепторов GPR-семейства – GPR91. Концентрация сукцината, при которой активация данных рецепторов составляет половину от максимальной, составляет 56 ± 8 мкмоль/л [25]. Таким образом, в нормальных физиологических условиях уровень сукцината в крови (2–20 мкмоль/л) недостаточен для выраженной активации GPR91. Малат и метилмалонат также способны активировать эти рецепторы, но в 5–10 раз слабее, чем сукцинат [1].

Физиологическая функция GPR91 заключается в преодолении последствий нарушения энергетического баланса, связанного в первую очередь с гипоксией и гипергликемией. Так, известно, что в условиях гипогликемии под влиянием глюкагона в адипоцитах белой жировой ткани происходит активная дегградация триглицеридов с образова-

нием высокоэнергетических жирных кислот. При гипергликемии сукцинат ингибирует липолиз, предотвращая поступление свободных жирных кислот в кровь, где уже содержится избыточное количество другого энергетически активного субстрата, глюкозы [1].

В печени GPR91 экспрессированы в звездчатых клетках. В эксперименте содержание сукцината в перфузате ишемизированной печени возрастало 14-кратно. Одновременно увеличивалась продукция гепатоцитами миофибробластических маркеров, что свидетельствовало об активации клеток [26]. Таким образом, сукцинат стимулирует репаративные процессы в печени, но в избыточных количествах может способствовать также и формированию фиброза.

GPR91 широко представлены в различных отделах почек: в кровеносных сосудах, в особенности в афферентных артериолах и сосудах клубочков, а также в толстом восходящем отделе петли Генле, в *macula densa* и кортикальных и медуллярных собирательных трубочках [27, 28]. В эксперименте микроперфузия изолированных клубочков сукцинатсодержащим буферным раствором вызывала активный выброс ренина из клеток юкстагломерулярного аппарата (ЮГА) и дилатацию приносящих артериол [29]. Таким образом, сукцинат играет важную роль в формировании гломерулярной гиперfiltrации и ренин-зависимой артериальной гипертензии. Сукцинат-зависимый выброс ренина из клеток ЮГА опосредован повышением продукции монооксида азота, а также высвобождением внутри клеток арахидоновой кислоты, что под влиянием циклооксигеназы-2 приводит к продукции и высвобождению простагландина E2 с последующей активацией EP2- и/или EP4 рецепторов гранулярных клеток [29,30]. Аналогичный механизм описан и при повышении содержания сукцината в первичной моче, т.е. при стимуляции люминальных мембран клеток ЮГА [31].

Длительная инкубация кардиомиоцитов в условиях высокой (10 ммоль/л) концентрации сукцината стимулировала апоптоз клеток [23]. Таким образом, GPR91, вероятно, играют роль в регуляции апоптоза клеток миокарда в условиях ишемии и гипоксии. Одним из вероятных механизмов индуцируемого сукцинатом апоптоза миоцитов, по-видимому, также является сукцинат-зависимая активация простагландиновой системы.

Авторами цитируемой работы было также отмечено, что сукцинат увеличивает содержание ионов кальция в цитозоле миокардиоцитов, что может лежать в основе антиаритмического действия пре-

паратов ЯК, а в том случае, если данный эффект распространяется и на гладкомышечные клетки сосудов – способствовать повышению артериального давления. Поскольку специфический транспортер дикарбоновых кислот в клетках миокарда до настоящего времени не обнаружен и, следовательно, проникновение экзогенного сукцината внутрь миокардиоцита представляется сомнительным, повышение содержания внутриклеточного кальция, вероятно, является результатом связывания сукцината с GPR91 с последующей активацией цАМФ-зависимой протеинкиназы [32, 33]. Этот же механизм, вероятно, лежит в основе продемонстрированного в другом исследовании повышения содержания внутриклеточного калия под влиянием сукцината, поскольку это повышение не было связано с изменением активности Na, K-АТФазы [24].

Существуют данные о том, что повышение как внутриклеточной, так и внеклеточной концентрации сукцината приводит к повышению продукции и высвобождения фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [1].

Таким образом, роль ЯК в организме далеко не ограничивается участием в цикле трикарбоновых кислот. При исследовании метаболических эффектов сукцината необходимо учитывать сигнальную и регуляторную функции молекулы янтарной кислоты.

Роль сукцината в коррекции митохондриальных дисфункций

Митохондриальные дисфункции, т.е. нарушение функции митохондрий по высвобождению энергии органических веществ и аккумуляции ее в виде макроэргических фосфатных соединений, играют важную роль в патогенезе целого ряда болезней, в том числе атеросклероза, сахарного диабета, нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона) и рака [34–36].

Сравнительно недавно появились данные о наличии дисфункции митохондрий у больных с хронической болезнью почек (ХБП). Исследование генома мононуклеаров периферической крови у больных с ХБП 4–5 стадии, получающих консервативное лечение (9 больных) и терапию гемодиализом (17 пациентов), выявило «up»-регуляцию 44 генов, 11 из которых (25%) кодируют белки, участвующие в процессе окислительного фосфорилирования [37]. Активность 4-го комплекса дыхательной цепи у этих больных была достоверно ниже, чем у здоровых лиц из контрольной группы.

Дисфункция митохондрий мышц является одной из основных причин развития мышечной слабости и снижения толерантности к физическим нагрузкам

у больных с терминальной почечной недостаточностью (ТПН). В эксперименте у мышей после удаления 5/6 почечной ткани закономерно снижались мышечная масса и сила сокращения мышц, а также расстояние, которое они преодолевали за единицу времени. Диета с высоким содержанием белка увеличивала объем и силу мышц, но проходимая дистанция продолжала прогрессивно сокращаться, в то время как назначение дихлорацетата, активатора пируватдегидрогеназы, эффективно восстанавливало изначальную ее длину [38]. Таким образом, активацию митохондриальной функции можно признать одним из перспективных направлений борьбы с мышечной дистрофией у больных с ТПН.

Процедура гемодиализа приводит к усугублению дисфункции митохондрий: количество лимфоцитов периферической крови, на мембране митохондрий которых отсутствует электрохимический потенциал, к концу сеанса гемодиализа существенно возрастает ($43,4 \pm 4,6$ против $32,6 \pm 2,9\%$ перед сеансом, $p < 0,01$) [39].

Дисфункция митохондрий может быть обусловлена не только нарушениями окислительно-фосфорилирования и дыхательной цепи, но и дефектами митохондриального мембранного транспорта. Митохондрии имеют двухслойную оболочку. Метаболизм митохондрий требует постоянного обмена субстратов между цитозолем и митохондриальным матриксом (процессы анаплероза и катаплероза). На внутренней складчатой мембране локализованы специфические транспортные комплексы, например, транспортер дикарбоновых кислот, фосфатный транспортер, переносчик карнитина и ацетилкарнитина и др. Транспорт всех водорастворимых метаболитов через гладкую наружную мембрану, напротив, осуществляется через вольтаж-зависимые анионные каналы (VDAC) без участия специфических транспортеров [40, 41]. Наружная мембрана имеет и другие, не вольтаж-зависимые каналы, но они в обычных условиях закрыты и служат для специфических целей, участвуя, в частности, в процессах апоптоза. Функционирование VDAC крайне необходимо для поддержания энергетического баланса клетки в целом. Закрытие этих каналов, например, в условиях ишемии, оксидативного стресса или острой нагрузки алкоголем, приводит к нарушению транспорта метаболитов через наружную мембрану и, следовательно, подавлению функционирования митохондрии в целом и гибели клетки [42].

Препараты ЯК активно используют при лечении митохондриальных болезней, в том числе у детей, поскольку примерно у трети пациентов с

недостаточностью ферментов дыхательной цепи начальные симптомы проявляются в первый месяц жизни [43]. Описан случай успешного применения ЯК у 27-летнего больного с синдромом MELAS (митохондриальная миопатия, энцефалопатия, лактат-ацидоз, инсультоподобные эпизоды). Прием сукцината в суточной дозе 6 г перорально привел к полному исчезновению неврологических нарушений, до того не поддающихся лечению на протяжении 30 мес [44].

Известно, что ЯК используют с целью уменьшения отрицательных последствий приема алкоголя, а ее препараты (например «Реамберин») применяют при лечении острой алкогольной интоксикации [45, 46]. Таким образом, можно предполагать, что повышение внутриклеточной концентрации сукцината при применении сукцинатсодержащих препаратов искусственно создает условия, напоминающие физиологический процесс анаплероза, а следовательно, сопровождается открытием VDAC и восстановлением (или интенсификацией) метаболических процессов.

Можно также предполагать, что имеющаяся у больных с уреимией митохондриальная дисфункция обусловлена в том числе и нарушением функционирования вольтаж-зависимых каналов, закрытие которых приводит к снижению процессов синтеза АТФ и бета-окисления жирных кислот, что, в свою очередь, имеет следствием развитие белково-энергетической недостаточности и гипертриглицеридемии у этих больных. Увеличение внутриклеточного содержания сукцината, способствующее открытию VDAC, интенсифицирует процесс транспорта сукцината в митохондрии.

Таким образом, применение препаратов ЯК может способствовать коррекции митохондриальной дисфункции у больных, получающих лечение хроническим гемодиализом.

Антиоксидантное действие ЯК

Одним из основных патогенетических механизмов поражения сердца и сосудов является оксидативный стресс, т.е. повреждение тканей в результате избыточного образования окислительных компонентов и недостаточности механизмов антиоксидантной защиты. Эндотелий сосудов является одновременно источником и главной мишенью активных форм кислорода. Одним из ключевых факторов, влияющих на состояние сосудистой стенки, является монооксид азота (NO), который синтезируется в клетках эндотелия во время превращения аргинина в цитруллин в реакции, катализируемой ферментом NO-синтаза [47, 102]. В ответ на окислительный стресс увеличивается

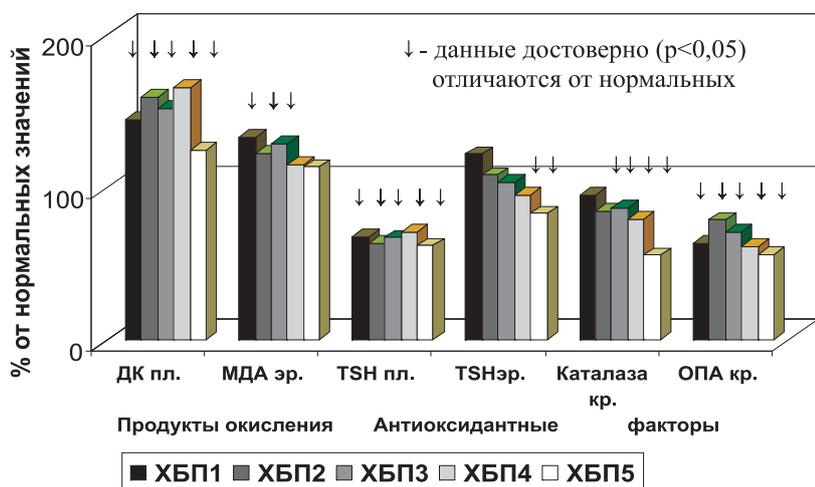


Рис. 2. Дисбаланс между продуктами окисления и антиоксидантными факторами при хронической болезни почек (НИИ нефрологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова)

синтез VEGF, который ингибирует продукцию NO [48,49]. Активные формы кислорода, концентрация которых в крови повышается в условиях оксидативного стресса, реагируют с NO, что, во-первых, сопровождается снижением его концентрации, а во-вторых, к образованию новых реактогенных форм кислорода, таких как пероксинитриты, активно связывающиеся с тирозиновыми остатками структурных белков и ферментов, что приводит к нарушению их функции [50]. Снижение концентрации NO, повышение уровня VEGF способствуют ремоделированию сосудистой стенки [48, 50, 51].

Хроническую болезнь почек можно рассматривать как прооксидантное состояние (рис. 2). Уже на ранних стадиях ХБП происходит значительное увеличение продукции активных форм кислорода, повышение концентрации в плазме продуктов перекисного окисления липидов, F₂-изопростанов, 3-хлортирозина, снижение антиоксидантной способности, в том числе ферментативной, уменьшение содержания витаминов С и Е, селена [50, 52–54].

При ХБП вторичные продукты перекисного окисления липидов, такие как малоновый диальдегид и 4-гидроксиноненал, образуя соединения с белками, препятствуют реализации их биологических функций, в частности, снижают активность ферментов. Другие продукты свободнорадикального окисления – оксистеролы – ускоряют развитие атеросклероза и увеличивают риск развития ишемической болезни сердца [51]. Оксидативный стресс способствует апоптозу кардиомиоцитов и пролиферации фибробластов в миокарде, что приводит к развитию гипертрофии и фиброза миокарда.

У больных, получающих лечение гемодиализом, отмечены признаки выраженного оксидативного стресса [55–57]. При контакте с диализной мембраной активируются нейтрофилы, которые

являются источником свободных радикалов [57–59]. Количество лимфоцитов, в которых происходит генерация активных форм кислорода, в конце сеанса гемодиализа достоверно выше, чем перед сеансом (20,7±5,2% против 12,5±2,9% для супероксид-аниона, p<0,02 и 51,1±7,8% против 38,2±5,9% для пероксида, p<0,04) [39]. За счет образования при контакте лейкоцитов с диализной мембраной большого количества свободных радикалов процедура гемодиализа сопровождается инактивацией NO [60]. У больных, получающих лечение программным гемодиализом, отмечено значительное повышение содержания в крови продуктов липопероксидации (диеновых конъюгатов – в среднем на 35% – и оснований Шиффа – в 7 раз по сравнению со значениями у здоровых доноров), а также уменьшение концентрации восстановленных тиолов в среднем до 60% от нормальных значений [61].

Однократная процедура гемодиализа увеличивает перекисное окисление липидов и снижает уровень антиоксидантов, например восстановленного глутатиона [62, 63]. В крови у больных на гемодиализе обнаружены антитела к окислительно-модифицированным липопротеидам низкой плотности, причем титр последних является независимым предиктором сердечно-сосудистой смертности в данной популяции [64]. Важную роль мембраны диализатора в развитии оксидативного стресса подтверждают результаты применения диализаторов с инкорпорированным в мембрану антиоксидантом. Показано, что покрытие целлюлозной мембраны витамином Е приводит к снижению уровня маркеров перекисного окисления липидов в крови и уменьшению концентрации липопротеидов низкой плотности [65–68].

У больных с ХБП, начиная с первой стадии, наблюдается прогрессирование эндотелиальной дис-

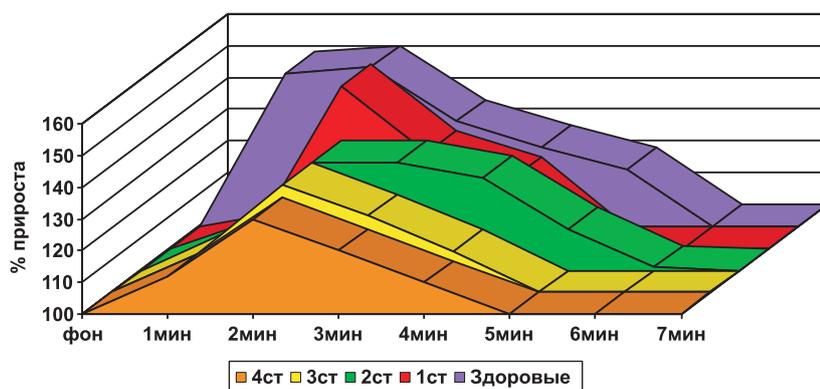


Рис. 3. Прирост объемной скорости кровотока в сосудах кожи в пробе с ацетилхолином в зависимости от стадии хронической болезни почек (НИИ нефрологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова)

функции (рис. 3), о чем свидетельствует снижение кровотоков-зависимой вазодилатации, важную роль в возникновении которой играет оксидативный стресс [67–69]. Это объясняет тесную взаимосвязь между выраженностью оксидативного стресса и средним артериальным давлением, выявленную в ряде исследований [72]. В эксперименте на крысах при удалении у них 5/6 массы почек показано, что оксидативный стресс – важный патогенетический фактор развития уремической гипертензии, причем ведущее значение имеет увеличение продукции гидроксильного радикала, а не супероксиданиона или перекиси водорода [73].

Частая, в сравнении с общей популяцией, инфицированность вирусными гепатитами у диализных больных также ассоциируется с увеличением активности оксидативного стресса [74].

В связи с вышесказанным большое значение имеет наличие антиоксидантного действия у препаратов ЯК. Янтарная кислота является антиоксидантом направленного митохондриального действия [4, 5, 75, 76]. Активное окисление янтарной кислоты способно поддерживать высокую степень восстановленности коэнзима Q, предупреждая накопление его семихинонной (полувосстановленной) формы, которая является генератором супероксид-аниона [77, 78]. По антиоксидантной активности сукцинат сопоставим с синтетическим антиоксидантом ионолом [5].

В эксперименте применение моноэтилового эфира янтарной кислоты у крыс со стрептозотоцини-индуцированным диабетом приводило к значительному снижению содержания в крови продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [79]. В условиях выраженного оксидативного стресса вследствие повреждения митохондриальных мембран происходит активный выход белковых молекул из митохондрий в цитозоль. Введение сукцината в клеточную культуру предотвращало этот эффект, что было показано методом электрофореза митохондриальных белков [80].

При сравнении антиоксидантной активности и клинической эффективности наиболее распространенных в отечественной практике антиоксидантов (реамберин, мексидол, витамин Е, солкосерил, актовегин, пирацетам) у больных с синдромами абдоминального сепсиса, системного воспаления, полиорганной недостаточности, цереброваскулярной недостаточности установлено, что реамберин действует эффективнее других антиоксидантов при септических состояниях и (наряду с мексидолом) у больных с цереброваскулярной недостаточностью. Оба этих препарата также показали высокую эффективность при лечении больных с полиорганной недостаточностью [81].

У больных, получающих лечение программным гемодиализом, после двухнедельного курса лечения сукцинатсодержащим препаратом «Реамберин» (6 внутривенных инфузий по 400 мл 1,5% раствора) отмечено снижение содержания в сыворотке крови диеновых конъюгатов в среднем на 25%, малонового диальдегида – на 40% и оснований Шиффа – на 10%, однако через две недели после прекращения введения препарата значения данных показателей вернулись к исходному уровню [61].

Таким образом, для больных, получающих лечение хроническим гемодиализом, характерно наличие хронического оксидативного стресса. Можно предположить, что препараты янтарной кислоты, обладающие антиоксидантным свойством, будут способны уменьшить проявления оксидативного стресса и связанных с ним осложнений у этой категории больных. При этом, поскольку антиоксидантный эффект ЯК непродолжителен, необходимо обеспечить постоянное применение этих препаратов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ariza AC, Deen PMT, Robben JH. The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related conditions. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3(22): 1-8
2. Kushnir MM, Komaromy-Hiller G, Shushan B et al. Analysis of dicarboxylic acids by tandem mass spectrometry. High-

- throughput quantitative measurement of methylmalonic acid in serum, plasma, and urine. *Clin Chem* 2001; 47(11): 1993-2002
3. Теличкин ИА, Роберт Кох (1843-1910). *Клин Мед* 1996; (1): 78-79
 4. Афанасьев ВВ. *Клиническая фармакология реамберина (очерк)*. Полисан, СПб., 2005; 39 с
 5. Андреева НН. Экспериментальные и клинические аспекты применения мексидола при гипоксии. *Мед альманах* 2009; 4(9): 193-197
 6. Мейес П. Цикл лимонной кислоты: катаболизм ацетил-СоА. В: Марри Р, Греннер Д, Мейес П, Родуэлл В. *Биохимия человека*. Мир, М., 2009; Т.1: 72-180
 7. Наточин ЮВ. *Ионорегулирующая функция почки*. Наука, Л., 1976; 99-108
 8. Krebs HA, Eggleston LV, D'Alessandro A. The effect of succinate and amytal on the reduction of acetoacetate in animal tissues. *Biochem J* 1961; 79: 537-549
 9. Chance B, Hollunger G. The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria: 1. General properties and nature of the products of succinate-linked reduction of pyridine nucleotide. *J Biol Chem* 1961; 236(5): 1534-1543
 10. Мейес П. Окислительное фосфорилирование и транспортные системы митохондрий. В: Марри Р, Греннер Д, Мейес П, Родуэлл В. *Биохимия человека, в 2-х т.т.* Мир, М., 2009; Т.1: 127-139
 11. Hawkins BJ, Levin MD, Doonan PJ et al. Mitochondrial complex II prevents hypoxic but not calcium- and proapoptotic Bcl-2 protein-induced mitochondrial membrane potential loss. *J Biol Chem* 2010; 285(34): 26494-26505
 12. Писаренко ОИ, Хлопков ВН, Рууге ЭК. Изучение методом ЯМР образования сукцината из экзогенных предшественников в неаэрируемых митохондриях сердца крысы. *Биохимия* 1986; 51(4): 1174 – 1179
 13. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54(6): 1615-1625
 14. Weinberg JM, Venkatahalam MA, Roeser NE, Nissim I. Mitochondrial dysfunction during hypoxia/reoxygenation and its correction by anaerobic metabolism of citric acid cycle intermediates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2826-2831
 15. Hearl WG, Churchich JE. A mitochondrial NADP⁺-dependent reductase related to the 4-aminobutyrate shunt. *J Biol Chem* 1985; 260(30): 16361-16366
 16. Cairns CB, Ferroggiaro AA, Walther JM et al. Postischemic administration of succinate reverses the impairment of oxidative phosphorylation after cardiac ischemia and reperfusion injury. *Circulation* 1997; 96(Suppl.9): 260-265
 17. Маевский ЕИ, Гришина ЕВ, Окон МС и др. Сравнительная оценка энергетического вклада анаэробного образования сукцината из различных субстратов в митохондриях печени. *Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве* Пушкино, ОНТИ ГШЦ РАИ, 1997; 42-51
 18. Хочачка П, Сомеро Дж. *Биохимическая адаптация*. Мир, М., 1988; 568 с
 19. Taegtmeyer H. Metabolic responses to cardiac hypoxia. Increased production of succinate by rabbit papillary muscles. *Circ Res* 1978; 43(5): 808-815
 20. Маевский ЕИ, Гришина ЕВ, Розенфельд АС и др. Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления – возможные механизмы адаптации клетки к кислородному голоданию. *Биомед журнал* 2000; 1: 32-36
 21. Mohan C, Geiger PJ, Bessman SP. The intracellular site of action of insulin: the mitochondrial Krebs cycle. *Curr Top Cell Regul* 1989; 30: 105-142
 22. Lohse MJ, Krasel C, Winstel R, Mayor F. G-protein-coupled receptor kinases. *Kidney Int* 1996; 49(4): 1047-1052
 23. Aguiar CJ, Andrade VL, Gomes ER et al. Succinate modulates Ca²⁺ transient and cardiomyocyte viability through PKA-dependent pathway. *Cell Calcium* 2010; 47(1): 37-46
 24. Gullans SR, Kone BC, Avison MJ, Giebisch G. Succinate alters respiration, membrane potential, and intracellular K⁺ in proximal tubule. *Am J Physiol* 1988; 255(6, Pt.2): F1170-1177
 25. He W, Miao FJ, Lin DC et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. *Nature* 2004; 429(6988): 188-193
 26. Correa P, Kruglov E, Thompson M et al. Succinate is a paracrine signal for liver damage. *J Hepatol* 2007; 47(2): 262-269
 27. Peti-Peterdi J, Kang JJ, Toma I. Activation of the renin-angiotensin system in diabetes – new concepts. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(10): 3047-3049
 28. Regard JB, Sato IT, Coughlin SR. Anatomical profiling of G protein-coupled receptor expression. *Cell* 2008; 135(3): 561-571
 29. Toma I, Kang JJ, Sipos A et al. Succinate receptor GPR91 provides a direct link between high glucose levels and renin release in murine and rabbit kidney. *J Clin Invest* 2008; 118(7): 2526-2534
 30. Robben JH, Fenton RA, Vargas SL et al. Localisation of the succinate receptor in the distal nephron and its signaling in polarised MDCK cells. *Kidney Int* 2009; 76(12): 1258-1267
 31. Vargas SL, Toma I, Kahg JJ et al. Activation of the succinate receptor GPR91 in macula densa cells causes renin release. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(5): 1002-1011
 32. Pajor AM. Molecular properties of sodium/dicarboxylate cotransporters. *J Membr Biol* 2000; 175(1): 1-8
 33. Kekuda R, Wang H, Huang W et al. Primary structure and functional characteristics of a mammalian sodium-coupled high affinity dicarboxylate transporter. *J Biol Chem* 1999; 274(6): 3422-3429
 34. Camara AK, Lesnefsky EJ, Stowe DF. Potential therapeutic benefits of strategies directed to mitochondria. *Antioxid Redox Signal* 2010; 13(3): 279-347
 35. Fosslien E. Mitochondrial medicine – molecular pathology of defective oxidative phosphorylation. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31(1): 25-67
 36. Archer SL. Mitochondrial dynamics – mitochondrial fission and fusion in human diseases. *N Engl J Med* 2013; 369(23): 2236-2251
 37. Granata S, Zaza G, Simone S et al. Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *BMC Genomics* 2009; doi: 10.1186/1471-2164-10-388
 38. Tamaki M, Miyashita K, Wakino S et al. Chronic kidney disease reduces muscle mitochondria and exercise endurance and its exacerbation by dietary protein through inactivation of pyruvate dehydrogenase. *Kidney Int* 2013; doi: 10.1038/ki.2013.473
 39. Raj DS, Boivin MA, Dominic EA et al. Haemodialysis induces mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Eur J Clin Invest* 2007; 37(12): 971-977
 40. Antignani A, Youle RJ. How do Bax and Bak lead to permeabilization of the outer mitochondrial membrane? *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18(6): 685-689
 41. Dejean LM, Martinez-Caballero S, Kinnally KW. Is MAC the knife that cuts cytochrome c from mitochondria during apoptosis? *Cell Death Differ* 2006; 13(8): 1387-1395
 42. Holmuhamedov E, Lemasters JJ. Ethanol exposure decreases mitochondrial outer membrane permeability in cultured rat hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 2009; 481(2): 226-233
 43. Ершова СА. Дисфункция митохондрий при нефропатиях у детей. *Нефрология и диализ* 2003; 5(4): 344-353
 44. Oguro H, Iijima K, Takahashi K et al. Successful treatment with succinate in a patient with MELAS. *Int Med* 2004; 43(5): 427-431
 45. Захаров ВВ, Федоров АВ, Чухрова МГ. Купирование алкогольного абстинентного синдрома и прерывание запоев с применением препаратов янтарной кислоты. *Вестник СПбМА им. И.И. Мечникова* 2004; (2): 116-118
 46. Ливанов ГА, Куценко СА, Батоцыренов БВ и др. Коррекция свободнорадикальных процессов препаратом янтарной кислоты (реамберин) в интенсивной терапии острых отравлений. *Анестезиол и реаниматол* 2001; (4): 28-31
 47. Silacci P, Hayoz D. Oxidative stress as the triggering event for vascular remodelling. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(6): 1343-1346
 48. Kuroki M, Voest EE, Amano S et al. Reactive oxygen species intermediates increase vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1996; 98(7): 1667-1675
 49. Tsurumi Y, Murohara T, Krasinski K et al. Reciprocal relation

- between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity. *Nat Med* 1997; 3(8): 879-886
50. Locatelli F, Canaud B, Eckardt K-U et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(7): 1272-1280
51. Тугушева ФА, Зубина ИМ, Митрофанова ОВ. Оксидативный стресс и хроническая болезнь почек. *Нефрология* 2007; 11(3): 29-47
52. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Каюков ИГ. Кардиоренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии. *Нефрология* 2005; 9(3): 7-15
53. Тугушева ФА, Зубина ИМ. Оксидативный стресс и его участие в неиммунных механизмах прогрессирования хронической болезни почек. *Нефрология* 2007; 13(3): 42-48
54. Massy ZA, Nguyen-Khoa T. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. *J Nephrol* 2002; 15(4): 336-341
55. Epperlein MM, Nourooz-Zadeh J, Jayasena SD et al. Nature and biological significance of free radicals generated during bicarbonate hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9(3): 457-463
56. Ozden M, Maral H, Akaydin D et al. Erythrocyte glutathione peroxidase activity, plasma malondialdehyde and erythrocyte glutathione levels in hemodialysis and CAPD patients. *Clin Biochem* 2002; 35(4): 269-273
57. Westhuyzen J, Adams CE, Fleming SJ. Evidence for oxidative stress during in vitro dialysis. *Nephron* 1995; 70(1): 49-54
58. Galle J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(11): 2135-2137
59. Hoenich NA. Platelet and leucocytes behaviour during hemodialysis. *Contrib Nephrol* 1999; (125): 120-132
60. Haag-Weber M, Horl WH. Dysfunction of polymorphonuclear leucocytes in uremia. *Semin Nephrol* 1996; 16(3): 192-201
61. Смирнов АВ, Васильев АН, Костерева ЕМ и др. Опыт применения препарата «Реамберин» и его влияние на показатели крови пациентов, получающих лечение программным гемодиализом. *Нефрология и диализ* 2007; 9(3): 290
62. Daschner M, Lenhart H, Botticher D et al. Influence of dialysis on plasma lipid peroxidation products and antioxidants levels. *Kidney Int* 1996; 50(4): 1268-1272
63. Ross EA, Koo LC, Moberly JB. Low whole blood and erythrocyte levels of glutathione in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 30(4): 489-494
64. Bayes B, Pastor MC, Bonal J et al. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis – role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 year follow-up. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(4): 984-990
65. Horl WH. Hemodialysis membranes: interleukins, biocompatibility, and middle molecules. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(Suppl. 1): S62-71
66. Lucchi L, Bergamini S, Botti B et al. Influence of different hemodialysis membranes on red blood cell susceptibility to oxidative stress. *Artif Organs* 2000; 24(1): 1-6
67. Mune M, Yukawa S, Kishino M et al. Effect of vitamin E on lipid metabolism and atherosclerosis in ESRD patients. *Kidney Int* 1999; 56(Suppl 71): S126-129
68. Tsuruoka S, Kawaguchi A, Nishiki K et al. Vitamin E-bonded hemodialyser improves neutrophil function and oxidative stress in patients with end-stage renal failure. *Am J Kidney Dis* 2002; 39(1): 127-133
69. Меншутина МА. Сравнительная оценка реактивности сосудов как формы дисфункции эндотелия у больных атеросклерозом и хронической болезнью почек. *Нефрология* 2004; 8(3): 56-61
70. Смирнов АВ, Петрищев НН, Панина ИЮ и др. Скорость клубочковой фильтрации – показатель функционального состояния эндотелия на ранних стадиях развития хронической болезни почек. *Тер арх* 2007; 79(6): 25-29
71. Miyazaki H, Matsuoka H, Itabe H et al. Hemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress. Effects of vitamin E-coated dialyser. *Circulation* 2000; 101(9): 1002-1006
72. Stewart T, Jung FF, Manning J, Vehascari VM. Kidney immune cell infiltration and oxidative stress contribute to prenatally programmed hypertension. *Kidney Int* 2005; 68(5): 2180-2188
73. Tepel M. Oxidative stress: does it play a role in the genesis of essential hypertension and hypertension of uremia. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(8): 1439-1442
74. Borawski J, Pawlak K, Naumnik B, Mysliwiec M. Relations between oxidative stress, hepatocyte growth factor, and liver disease in hemodialysis patients. *Ren Fail* 2002; 24(6): 825-837
75. Белоусов ЮБ, ред. *Современный подход к цитопротекторной терапии. Методическое пособие для врачей.* М., 2010; 30 с
76. Голиков АП, Бойцов СА, Михин ВП, Полумисков ВЮ. Свободно-радикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами. *Леч врач* 2003; (4): 34-47
77. Василев СЦ, Сафонов АБ. Роль янтарной кислоты в терапии митохондриальных болезней у детей. *Педиатрия* 2000; (2): 88-90
78. Розенфельд АС, Маевский ЕИ. *Теоретико-методологические аспекты действия сукцината при спортивных нагрузках и гипоксии.* Изд-во ГОУ ВПО « Рос. гос. проф.-пед. ун-т», Екатеринбург, 2007; 174 с
79. Saravanan R, Pari L. Succinic acid monoethyl ester, a novel insulinotropic agent: effect on lipid composition and lipid peroxidation in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 2007; 296(1-2): 165-176
80. Tretter L, Szabados G, Ando A, Horvath I. Effect of succinate on mitochondrial lipid peroxidation. 2. The protective effect of succinate against functional and structural changes induced by lipid peroxidation. *J Bioenerg Biomembr* 1987; 19(1): 31-44
81. Романцов МГ, Коваленко АЛ, ред. *Реамберин в клинической практике.* Полисан, СПб., 2007; 6-45

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 01.12.2013 г.
Принята в печать: 25.03.2014 г.