

# ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИБРАЦИОННО-ОПОСРЕДОВАННОЙ ГИПОКСИИ СЕРДЦА, ПЕЧЕНИ И ПОЧКИ КРОЛИКА

УДК 616.127:599.325  
DOI: 10.17816/RCF14146-62

© **В.В. Воробьева<sup>1</sup>, П.Д. Шабанов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

Статья принята к печати 21.01.2016

## Ключевые слова:

вибрация; митохондрии; энергетический обмен сердца, печени, почки кролика; модель вибрационно-опосредованной гипоксии; дистрофия.

## Резюме

Целью работы явилось экспериментальное изучение активности системы энергопродукции сердца, печени и почки кролика при неблагоприятном действии общей вибрации с частотой 8 и 44 Гц. Изучение функциональных состояний нативных митохондрий в составе гомогенатов тканей проводили полярографическим методом с помощью закрытого кислородного датчика гальванического типа в термостатируемой кювете объемом 1 мл в солевой среде инкубации. Метаболические состояния митохондрий миокарда, печени и почки экспериментальных животных моделировали *in vitro* при окислении эндогенных субстратов (до и после введения ингибиторов разных звеньев дыхательной цепи), при варьировании экзогенных энергетических субстратов (до и после введения в ячейку 2,4-ДНФ). В целях обеспечения синхронности измерений в сжатые сроки использовали неполный цикл метаболических состояний «эндогенное дыхание → покой → активность». Скорость окисления митохондрия-

ми эндогенных субстратов определялась тканевой принадлежностью и у интактных животных составила  $16,3 \pm 4,3$ ;  $5,2 \pm 0,6$ ;  $8,13 \pm 1,4$  в нг · атом O мин<sup>-1</sup> · мг<sup>-1</sup> белка для сердца, печени и почки соответственно. В сердце после высокочастотной вибрации падение скорости окисления НАД-зависимых субстратов в покое и «активном» метаболическом состоянии митохондрий составило 43 % ( $p \leq 0,05$ ) и 30 % ( $p \leq 0,01$ ), тогда как скорость окисления эндогенной янтарной кислоты возрастала к 21-му сеансу на 77 % ( $p \leq 0,05$ ), постепенно снижаясь к завершению воздействия. Аналогичные, но в меньшем диапазоне колебания показателей были отмечены для печени и почки. Системы энергопродукции сердца и паренхиматозных органов, вовлекаясь в ответную реакцию на воздействие вибрации, претерпевали качественные изменения функциональной активности по типу низкоэнергетического сдвига с гиперактивацией системы окисления янтарной кислоты и торможением НАД-зависимого звена дыхательной цепи митохондрий. Изучение биоэнергетических механизмов гипоксии различных тканей позволяет определить точку-мишень для фармакологического воздействия субстратными антигипоксантами.

## TISSUE SPECIFIC PECULIARITIES OF VIBRATION-INDUCED HYPOXIA OF THE RABBIT HEART, LIVER AND KIDNEY

© V.V. Vorobieva<sup>1</sup>, P.D. Shabanov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I.I. Mechnikov State Medical University, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

For citation: Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy, 2016, vol. 14, No. 1, pp. 46-62

Accepted: 21.01.2016

◆ **Keywords:** vibration; mitochondria; energy metabolism; heart; liver; kidney; vibration model of hypoxia; dystrophy; rabbit.

◆ **Abstract:** The purpose of the paper was experimental study of activity of energy production of the heart, liver and kidney after harmful action of general vibration with 8 and 44 Hz frequency. The functional state of native mitochondria in tissue homogenates was studied by polarographic method by means of closed oxygen device of halvanic type in thermostated cuvette of 1 ml volume in

the salt medium of incubation. Metabolic states of mitochondria of the rabbit heart, liver and kidney were modeled *in vitro* in oxidation of endogenous substrates (before and after administration of inhibitors of different stages of breath chain) varying exogenous substrates (before and after administration of 2.4-DNP into the cell). In order to synchronize the changes in short time, the incomplete cycle of metabolic states “endogenous breath → rest → activity” was used. The velocity of mitochondrial oxidation of endogenous substrates was determined by tissue

type, and was  $16.3 \pm 4.3$ ,  $5.2 \pm 0.6$  and  $8.13 \pm 1.4$  ng-atom O  $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  protein for the heart, liver and kidney of intact animals respectively. In the heart, after high frequent vibration, the reduction of oxidation velocity of NAD-dependent substrates in rest and in active metabolic state of mitochondria was 43 % ( $p \leq 0.05$ ) and 30 % ( $p \leq 0.01$ ) respectively, while the velocity of oxidation for endogenous succinic acid increased by 77 % ( $p \leq 0.05$ ) to 21st session of vibration, then constantly decreasing to the end of vibration sessions. The same changes but in less degree were

registered in the liver and kidney. The systems of energy production of the heart and the studied parenchymatic organs were involved in reaction on vibration exposure and reacted typically by low energetic shift with hyperactivation of endogenous succinic acid system of oxidation and inhibition of NAD-dependent part of the breath chain of mitochondria. Therefore, the study of bioenergetics mechanisms of hypoxia in different tissues allows to clear the molecular targets for pharmacological action by means of substrate antihypoxants.

### Список сокращений

- АОС — антиоксидантная система
- ДЦ — дыхательная цепь
- ИК — интактный контроль
- НАД-ЗС — никотинамидадениндинуклеотид-зависимый субстрат
- СДГ — сукцинатдегидрогеназа
- ФАД-ЗС — флавинадениндинуклеотид-зависимый субстрат
- ФСК — фермент-субстратный комплекс

## ВВЕДЕНИЕ

Повторяющееся и накапливаемое на протяжении определенного времени воздействие вибрации вызывает развитие вибрационной болезни, которую относят к одной из ведущих профессиональных патологий как в России, так и в других индустриально развитых странах мира [44, 45, 49, 76, 80, 104].

Согласно клинико-эпидемиологическим данным, длительное воздействие вибрации является одним из факторов риска возникновения патологии сердечно-сосудистой системы, почек и органов желудочно-кишечного тракта [29, 66, 68, 76, 86]. Больные вибрационной болезнью в связи с повышенной активностью симпатoadреналовой системы [10, 93] имеют гиперкинетический тип центральной гемодинамики, сниженную сократительную способность миокарда в фазу подготовительного периода, признаки диастолической дисфункции левого и правого желудочков. Более чем у половины больных обнаруживаются признаки миокардиодистрофии и ремоделирования [65, 74, 79] миокарда и сосудов [69, 70], снижается физическая работоспособность, повышается кислородная стоимость единицы работы и кислородный долг миокарда [34, 45, 57, 71]. В экспериментальных работах показано, что вибрационное воздействие на изолированное сердце экспериментальных животных (собаки, кролики) формирует зоны ишемии [85], угнетает сократимость миокарда [14] и его ритмическую деятельность [77], снижает способность папиллярных мышц к релаксации [46].

В настоящее время не вызывает сомнения воздействие факторов профессионального труда на формирование патологии желудочно-кишечного тракта. В частности, доказано, что вибрация вы-

зывает нарушение гликогенной, антиоксидантной, белковой и ферментативной функций печени у экспериментальных животных. Отмечено нарушение липидного обмена, ведущее к прогрессирующему увеличению числа жиросодержащих клеток печени, а также активности орнитинкарбамилтрансферазы, холинэстеразы, щелочной фосфатазы. Угнетается гликогенообразовательная функция гепатоцитов, и изменяется характер распределения гликогена в клетках. Эти изменения зависят от амплитуды, частоты и продолжительности воздействия вибрации. Предполагается, что снижение запасов гликогена в печени отражает изменение уровня окислительных процессов в системе изоферментов цитохрома P-450 [35].

Собственный ритм колебаний клеточных и субклеточных структур вступает во взаимодействие с механодеформирующими силами вибрации. Результирующее воздействие на клетки, мембраны, органеллы [14, 46, 68, 77, 82, 85, 91], при этом максимально отрицательным эффектом обладает частота, резонансная частоте данной ткани или органа, материальной основой которого в биологических объектах являются масса и ее упругие свойства. Диапазон резонансных частот для тканей и органов теплокровных животных и человека находится в диапазоне от 1 до 200 Гц [43, 70].

Порождая гидродинамические силы, вибрация вызывает колебания центрального и периферического внутрисосудистого давления, изменяющие кровенаполнение, выброс миокарда, периферический крово- и лимфоотток из паренхиматозных органов. Наблюдаются значительные изменения ультраструктуры клеток мышечного слоя артерий, деградация нейрогуморальной регуляции их тонуса, перестройка базальных мембран сосудов, ведущая к уплотнению и разрастанию периваскулярной соединительной ткани, нарушения сосудисто-тромбоцитарного звена гомеостаза [40, 50]. Между вибрационно-опосредованными нейроэндокринными нарушениями [9], мембранопатиями, активацией системы перекисного окисления липидов, торможением антиокислительной системы и состоянием сосудов при вибрационной болезни существуют тесные взаимообратные связи, формирующие системные микроангиопатии, ведущие к капиллярно-трофической недостаточности тканей

и органов. Таким образом, энергия колебания, порождаемая вибрацией, оказывает повреждающее воздействие на органы и ткани человека и животного, формирует дистрофические изменения [33, 43, 47, 66, 82, 85, 97] и отражается такими тканевыми биомаркерами, как протеогликианы, сульфатированные гликозаминогликаны [2, 36, 73, 87].

Ультраструктурными мишенями для воздействия вибрации являются все органеллы клетки, но наиболее чувствительны мембраны и митохондрии [95]. Вибрация вызывает набухание, просветление матрикса и реакцию крист митохондрий, разрушение наружных и внутренних мембран, изменение формы и появление большого количества мелких органелл, трансформируются межмитохондриальные взаимодействия [4]. Нарушение состояния клеток и мембран вследствие вибрационного воздействия оценивается как вибрационно-опосредованные цитопатии и мембранопатии и играет важную роль в патогенезе гипоксии при вибрационной болезни [95].

Фундаментальные исследования последних десятилетий показали, что митохондрии не только являются основным продуцентом энергетических эквивалентов в клетках, но и, выполняя важную регуляторную и объединяющую функцию, обеспечивают динамическое равновесие между различными путями метаболизма, участвуют в процессах апоптоза [23, 24]. В настоящее время митохондриальные дисфункции представляются одними из ведущих элементов в иерархии звеньев патогенеза многих заболеваний и патологических синдромов [22, 38, 55, 62, 75, 81, 89, 99]. Более того, митохондриальные дисфункции и биоэнергетическую гипоксию относят к типовым патологическим процессам [20, 39, 55, 59, 69, 81]. Известно, что основную адаптивную роль в условиях стрессирующих воздействий играет электронтранспортная функция сукцинат-оксидазного пути окисления [60, 92]. Активация II фермент-субстратного комплекса при гипоксии неизменно сопровождается ростом содержания в тканях сукцината, являющегося специфическим лигандом метаболитического рецептора из семейства P2Y, найденного в плазматической мембране GPR91 [100–103]. Стимулированная сукцинатом экспрессия данного типа рецепторов является составной частью компенсаторных реакций аэробного энергетического обмена при гипоксии более чем 20 тканей, обуславливая тканеспецифические особенности рецепторно-сигнальных функций [19, 41].

Несмотря на то что в ряде экспериментальных работ доказана вибрационно-опосредованная трансформация энергетического обмена [94–98], роль нарушения тканевой биоэнергетики в развитии вибрационно-обусловленных миокардиодистрофии и висцеропатий остается изученной недостаточно, поэтому для повышения эффективности профилактических и лечебных мероприятий [58, 67, 95] целью исследования явилось изучение тканеспецифиче-

ских особенностей биоэнергетической гипоксии сердца, печени и почки кролика под влиянием вибрации в эксперименте.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на кроликах-самцах весом 2,5–3 кг. Действие общей вертикальной вибрации с амплитудой 0,5 мм и частотой 8 и 44 Гц [69] моделировали на промышленной установке УВ 70/200. Сеанс воздействия длился по 60 мин ежедневно в течение 7, 21 и 56 дней в утренние часы (с 9 до 11). Контрольные и экспериментальные группы животных включали до 10 особей.

После вскрытия грудной клетки и брюшной полости животного быстро извлекали сердце, печень, почку и помещали в среду выделения фиксированного состава, охлажденную до 0 °С. Для имитации состава внутриклеточной среды использовали апробированные в других исследованиях сложные солевые растворы [8, 94].

Кусочки верхушки сердца, коркового слоя почки, печени массой примерно 250–300 мг помещали в охлажденный стальной пресс с отверстиями 1 мм и продавливали в калиброванный гомогенизатор Даунса из кварцевого стекла с тефлоновым пестиком при соотношении «среда выделения» : «ткань» = 1 : 2, получая таким образом 30%-й гомогенат ткани [8, 51]. С целью структурно-функциональной сохранности митохондрий исключали этап промывки, использовали высококонцентрированный гомогенат, а из среды выделения и инкубации исключали этилендиаминотетрауксусную кислоту (ЭДТА) [8, 52].

Изучение функциональных состояний нативных митохондрий [52] в составе гомогенатов проводили полярографическим методом [6, 52, 56] с помощью закрытого кислородного датчика гальванического типа в термостатируемой кювете объемом 1 мл при постоянном перемешивании в солевой среде инкубации, уравновешенной по газовому составу с воздухом при температуре 37 °С. В целях обеспечения синхронности измерений в сжатые сроки использовали неполный цикл метаболических состояний [16, 17] «эндогенное дыхание → покой → активность» [72].

Полярографическая измерительная установка в соответствии с требованиями метода состояла из электрода, ячейки с перемешивающим стержнем, термостатируемого кожуха, водяного термостата I ТЖ-003 (Россия), магнитной мешалки ММ-3 М (Россия), самописца LKB Bromma 22102-Channel Recorder (Швеция).

Метаболические состояния митохондрий миокарда, печени и почки экспериментальных животных моделировали *in vitro* при окислении эндогенных субстратов (до и после введения ингибиторов разных звеньев дыхательной цепи), при варьировании экзогенных энергетических субстратов (до и после

введения в ячейку 2,4-ДНФ) [6, 51–53, 72]. Скорость дыхания митохондрий ( $V$ ) в зависимости от добавок в среду инкубации выражали в  $\text{нг} \cdot \text{атом O} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  белка.

После внесения в ячейку 100 мкл свежеприготовленного гомогената в течение 60 с записывали эндогенное дыхание ( $V_0$ ), скорость которого — интегральный кинетический показатель, характеризующий оснащенность систем энергопродукции ткани эндогенными энергетическими субстратами и откликающийся на воздействие внешних факторов, направленных на целостный организм [30, 37].

Для оценки динамики истощения совокупности эндогенных энергетических субстратов в ткани использовали «тест временной деградации митохондрий». Сопоставляли изменчивость  $V_0$  на протяжении 60 мин хранения гомогената в аэробных условиях при комнатной температуре 18–20 °С. Каждые 20 мин отбирали пробы для измерения  $V_0$  и соотносили значения с исходной скоростью, измеренной тотчас же после получения свежего гомогената.

Вклад основных фракций дыхательной цепи (НАД- и ФАД-зависимых) в активность митохондрий оценивали посредством ингибиторного анализа [3, 63, 64]. Для этого в ячейку вводили либо ингибитор НАД·Н дегидрогеназы — амитал или ингибитор сукцинатдегидрогеназы (СДГ) — малонат до конечной концентрации в ячейке 2 мМ [94, 95].

Чувствительность  $V_0$  к ингибиторам вычисляли по формуле

$$\text{«Инг. ч.»} = (1 - V_{\text{инг}} / V_{\text{энд}}) \cdot 100\%,$$

где «Инг. ч.» — чувствительность эндогенного дыхания к малонату (мал. ч.) или амиталу (ам. ч.);  $V_{\text{инг}}$  ( $V_{\text{ам}}$  или  $V_{\text{мал}}$ ) — скорость окисления эндогенных энергетических субстратов в присутствии соответствующего ингибитора в ячейке в концентрации 2 мМ.

Введением в ячейку 5 мкл экзогенного субстрата митохондрии переводили в состояние субстратного дыхания (состояние «покоя»). В качестве НАД-зависимого субстрата использовали смесь глутамата и малата по 3 мМ, в качестве ФАД-зависимого субстрата — янтарнокислый натрий — до 1 мМ [37, 53, 63, 64]. Скорость субстратного дыхания ( $V_{\text{як}}$  и  $V_{\text{глу+мал}}$ ) в митохондриях тканей интактных животных, как правило, выше, чем эндогенного, и зависит от проницаемости мембран, способности ферментного комплекса окислять данный субстрат и готовности последующих участков дыхательной цепи транспортировать электроны к кислороду [72].

Экзогенные энергетические субстраты способны стимулировать ту фракцию дыхательной цепи, через которую транспортируются электроны после его окисления [63, 64, 72]. Прием стимуляции эндогенного дыхания экзогенным субстратом используется для оценки перехода митохондрий в метаболическое состояние «покоя» [8]. Количественно это можно выразить в виде коэффициентов стиму-

ляции ( $KC_{\text{як}}$  и  $KC_{\text{глу+мал}}$ ). Энергезирующее действие экзогенных субстратов создает «мягкие» условия инкубации гомогената. Отсутствие стимуляции вызывает на регуляторное угнетение или отключение, а возможно, на повреждение соответствующего звена дыхательной цепи [8].

Через 60 с субстратного дыхания в ячейку вводили разобцитель окисления-фосфорилирования 2,4-ДНФ [8, 72] до общепринятой разобцательной концентрации 20 мкМ. Протонофор 2,4-ДНФ ликвидирует электрохимический потенциал мембраны, что нарушает синтез АТФ и его регулирующее влияние в пунктах сопряжения дыхания с фосфорилированием [7]. Вследствие этого скорость окисления субстратов ( $V_{\text{як.р}}$ ,  $V_{\text{глу+мал.р}}$ ) возрастает. 2,4-ДНФ одинаково разобцает все точки сопряжения в дыхательной цепи, увеличивает уровень АДФ, снижает содержание АТФ за счет активизации АТФазы. При этом *in vitro* создается высокая функциональная нагрузка на ДЦ, что обеспечивает «активное» состояние митохондрий [72]. Величина протонной проводимости мембран в митохондриях во многом определяет их биоэнергетические характеристики [72]. Дыхательная цепь отвечает на введение разобцителя резким увеличением протонной проницаемости (и дыхания), аналогично тому, что происходит при синтезе АТФ. Однако при этом нет возврата митохондрий в состояние «отдыха» после классического перехода всей добавки АДФ в АТФ [16, 17], то есть к термодинамическому равновесию, когда выброс протонов дыхательной цепью автоматически уравновешен их медленной утечкой через сопрягающую мембрану. В разобценом состоянии скорость дыхания определяется кинетическими свойствами дыхательной цепи. При этом дыхание становится неконтролируемым [8, 72]. Исходя из этих данных можно косвенно оценить уровень энергетической регуляции дыхания в нативных митохондриях без АДФ по стимуляции субстратного дыхания разобцителем [72].

Стимуляция субстратного дыхания разобцителем 2,4-ДНФ тем выше, чем прочнее сопряженность окислительного фосфорилирования; чем эффективнее регуляция процессов окисления и преобразования энергии в дыхательной цепи в различные формы [7, 8]. В условиях сохранности I ФСК (НАД-зависимого звена) дыхательной цепи, в ответ на внесение в полярографическую ячейку композиции глутамат + малат и 2,4-ДНФ, наблюдается увеличение  $KC_{\text{глу+мал}}$  и/или  $KP_{\text{глу+мал}}$ . Если основной НАД-зависимый путь подавлен или разобцен, то эти показатели снизятся. Об активизации системы окисления янтарной кислоты — пути окисления (ФАД-зависимого звена) — будет свидетельствовать увеличение  $KC_{\text{як}}$  и  $KP_{\text{як}}$ , а снижение этих показателей (по отношению к интактным животным) укажет либо на регуляторное ограничение активности сукцинатзависимой энергетики или торможение вследствие развития низкоэнергетического сдвига

[51–53]. На исходно разобщенных или слабосопряженных (низкоэнергетических) препаратах митохондрий стимулирующее действие 2,4-ДНФ не только не проявится, а может сменяться торможением дыхания. Вероятно, это происходит вследствие «разрыхления» структурно-функциональной организации ДЦ и глубоких нарушений процессов переноса электронов, синтеза АТФ и других видов трансформации энергии. В частности, величина  $KP_c \leq 1,0$  интерпретировалась как уменьшение сопряженности окислительного фосфорилирования и развитие низкоэнергетического сдвига [72].

Параметры  $V_o, V_{як}, V_{глю+мал}, V_{як.р}, V_{глю+мал.р}$  относили к кинетическим, призванным комплексно характеризовать стационарные метаболические состояния митохондрий тканей. Терминами «состояние активности», «активное метаболическое состояние», «разобщенное» или «состояние в условиях АТФазной нагрузки» обозначали состояние митохондрий на фоне введения 2,4-ДНФ.

Оценивали динамику соотношения парциальных реакций эндогенного дыхания, характеризующих изменчивость основных потоков электронов при окислении НАД- и ФАД-зависимых субстратов в ферментных комплексах соответствующих фракций дыхательной цепи как отклик на воздействие *in vivo* неблагоприятного фактора. Для этого в доступных для нашего исследования метаболических состояниях митохондрий дополнительно ввели «регуляторные» коэффициенты приращения субстратного дыхания (КП) в состоянии покоя (п) и разобщения (р):

- 1)  $KP_o = [ФАД/НАД]_o = \text{мал.ч.} / \text{ам.ч.};$
- 2)  $KP_p = [ФАД/НАД]_p = V_{як} / V_{глю+мал};$
- 3)  $KP_r = [ФАД/НАД]_r = V_{як.р} / V_{глю+мал.р};$

где мал.ч. и ам.ч. — доли малонат- и амилалчувствительного эндогенного дыхания;  $V_{як}$  и  $V_{глю+мал}$  — скорости окисления экзогенного сукцината и смеси глутамата и малата в состоянии «покоя»;  $V_{як.р}$  и  $V_{глю+мал.р}$  — скорости окисления субстратов в «активном» состоянии митохондрий в условиях АТФазной нагрузки, моделируемой с помощью разобщителя 2,4-ДНФ [3, 63, 64].

Способность митохондрий переходить из одного метаболического состояния в другое определяется полноценностью соответствующих регулирующих механизмов и может быть оценена по отношению скоростей дыхания в момент перехода [17]. Параметры-отклики позволяют дифференцировать экспериментальные группы по переходным состояниям митохондрий, полученных из тканей животных, подвергнутых разным тестирующим воздействиям.

Под действием экзогенного субстрата митохондрии, окисляющие на данный момент эндогенные субстраты, переходят в состояние субстратного дыхания, дополнительно активизируя дегидрогеназу, соответствующую добавленному экзогенному субстрату [61]. Точка перехода из одного состояния в другое информативна и является функцией от-

клика, позволяющей фиксировать различия между экспериментальными группами [72, 97]. Для характеристики митохондрий в переходных состояниях использовали коэффициенты стимуляции дыхания субстратом ( $KC_c$ ) и разобщителем (КР).

Введение показателей типа КС и КР позволило количественно оценивать *in vitro* регулирующее действие экзогенного субстрата (ФАД-, НАД-зависимых) или разобщающее действие 2,4-ДНФ как отражение общей сопряженности препарата [7, 8, 63, 64]. В последнем случае исходили из того, что чем выше КР, тем сопряженнее окисление-фосфорилирование в митохондриях [7, 8]. «Регуляторные» параметры характеризуют митохондрии в переходных состояниях (из состояния эндогенного дыхания в состояние субстратного или «покоя»; из состояния «покоя» в состояние «активности»). Коэффициенты  $KC_{як}, KC_{глю+мал}, KР_{глю+мал}, KР_{як}$  вычисляли по формулам

$$KC_c = V_c / V_o,$$

$$KР_c = V_{c.р} / V_c,$$

где  $KC_c$  — стимуляция эндогенного дыхания после введения в ячейку экзогенного субстрата (с);  $V_c$  — скорость дыхания митохондрий после добавления в ячейку экзогенного субстрата (ЯК или ГЛУ+МАЛ);  $V_o$  — скорость окисления эндогенных субстратов;  $KР_c$  — стимуляция субстратного дыхания 2,4-ДНФ;  $V_{c.р}$  — скорость окисления экзогенного субстрата после добавления 2,4-ДНФ. Коэффициенты  $KC_c$  и  $KР_c$  выражали в относительных единицах измерения.

При содержательной интерпретации данных исходили из критерия оптимального уровня энергетической и субстратной регуляции митохондрий. За него принимали значения переходных параметров, приближенные к таковым у интактных животных, у которых уровень регуляции характеризовался наибольшим приростом скоростей в «активном» и разобщенном состоянии.

Концентрацию белка в гомогенате измеряли модифицированным микробиуретовым экспресс-методом по J. Goa [32], который обладает высокой специфичностью, чувствительностью, не зависит от аминокислотного состава белка и характеризуется линейной связью между концентрацией белка и интенсивностью окраски проб в широком диапазоне концентраций. В наших экспериментах содержание белка в ячейке после добавления гомогенатов тканей составляло  $2,4 \pm 0,5$  мг.

После забоя животных, их вскрытия и изъятия тканей для анализа биоэнергетических процессов иссекали кусочек мышцы миокарда левого желудочка в области верхушки, кусочек печени, коркового слоя почки и помещали в 10% нейтральный раствор формалина (соотношение «ткань» : «раствор» = 1 : 10).

Дальнейшая обработка материала проводилась стандартно методом спиртово-парафиновой проводки в гистологической лаборатории. Окраска гистологических препаратов осуществлялась гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением комплекса статистических программ Excel-2002, STATISTICA 6,0 с расчетом средней и ошибки средней арифметической ( $M \pm m$ ) и 95 % доверительного интервала. Статистическую значимость межгрупповых различий оценивали с помощью параметрического ( $t$ -критерия Стьюдента) и непараметрического (Манна–Уилки–U-теста) в зависимости от типа распределения параметра, которое проверяли по тесту Колмогорова–Смирнова, Шапиро–Уилка и Лиллиефорса в модуле Basic Statistics/Tables.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Энергетические возможности органов с импульсным характером функционирования (сердце, мышцы) отличаются от органов с постоянным уровнем функциональной активности (печень, мозг) [1, 11, 12, 54]. Интенсивность окисления митохондриями эндогенных субстратов определяется тканевой принадлежностью, в частности, в наших исследованиях эндогенное дыхание в почке контрольных животных

оказалось на 60 % выше, чем в митохондриях ткани печени (табл. 1) [97].

В экспериментах для митохондрий миокарда (табл. 2) интактных контрольных животных получены показатели градаций метаболических состояний, согласующиеся с литературными данными [37].

Параметры эндогенного дыхания митохондрий печени и почки кролика подвергались изменениям на фоне вибрации 44 Гц различной длительности (см. табл. 1). Например, в процессе кумуляции эффектов вибрации на уровне ткани почки через 7 сеансов наблюдали ускорение окисления эндогенных субстратов на 24 %, через 21 сеанс — на 42 % ( $p < 0,01$ ), к завершению вибрации показатель возвращался к уровню интактного контроля, свидетельствуя о сохранности резерва эндогенных энергетических субстратов и большей устойчивости к воздействию вибрации эндогенного дыхания почки по сравнению с аналогичным показателем печени.

Процессы окисления эндогенных энергетических субстратов нативными митохондриями сердца кроликов *in situ* и его чувствительность к ингибиторам изменялись в зависимости от количества сеансов и частоты общей вибрации, действующей

■ Таблица 1. Параметры эндогенного дыхания митохондрий печени и почки кролика на фоне вибрации 44 Гц

Факторы вибрации и их уровни		n	V <sub>энд</sub> печени	V <sub>энд</sub> почки
Частота, Гц	Количество сеансов вибрации			
0	0	20	5,2±0,65	8,13±1,4
44	7	10	3,5±0,4	10,1±1,6
44	21	10	6,0±0,69	11,4±1,72
44	56	10	4,32±0,15	8,8±1,1

0 — группа интактных животных; n — количество животных в исследуемой группе, V<sub>э</sub> — скорость эндогенного дыхания; указаны средние значения показателей с 95 % доверительными интервалами

■ Таблица 2. Показатели градаций метаболических состояний митохондрий сердца интактных кроликов

Показатели	M±m
V <sub>э</sub>	16,3±4,3
Амиталчувствительность, %	50,6±10,6
Малонатчувствительность, %	35,1±7,8
V <sub>як</sub>	34,3±7,6
V <sub>глу+мал</sub>	22,7±5,0
V <sub>як.р</sub>	47,7±14,2
V <sub>глу+мал.р</sub>	48,1±15,7
Коэффициент стимуляции (КС <sub>як</sub> )	2,1±0,7
Коэффициент стимуляции (КС <sub>глу+мал</sub> )	1,3±0,3
Коэффициент разобщения (КР <sub>як</sub> )	1,4±0,5
Коэффициент разобщения (КР <sub>глу+мал</sub> )	2,1±0,6
Коэффициент приращения (КП <sub>э</sub> )	0,79
Коэффициент приращения (КП <sub>п</sub> )	1,51
Коэффициент приращения (КП <sub>р</sub> )	0,98

Скорости дыхания митохондрий сердца даны в нг · атом О мин<sup>-1</sup>мг<sup>-1</sup>белка; КС, КР — в условных единицах измерения. Указаны средние значения показателей с их 95 % доверительными интервалами

■ Таблица 3. Параметры эндогенного дыхания нативных митохондрий сердца кроликов при градации факторов общей вибрации

Факторы вибрации и их уровни		n	$(V_3),$ $M (s)$	Мал. ч., %	Ам. ч., %	Мал. ч. / Ам. ч., %	
частота, Гц (А)	количество сеансов вибрации (В)						
0*	A <sub>1</sub>	0	7	16,3 (4,6)	15,9 (6,1)	33,6 (8,9)	0,47
8	A <sub>2</sub>	7 (В <sub>1</sub> )	6	16,3 (3,2)	40,0 (15,8)	47,6 (19,0)	0,84
8		21 (В <sub>2</sub> )	6	18,8 (5,2)	55,4 (7,2)	26,4 (8,5)	2,09
8		56 (В <sub>3</sub> )	7	23,4 (5,7)	31,2 (5,7)	22,4 (10,2)	1,4
44	A <sub>3</sub>	7 (В <sub>1</sub> )	5	22,6 (5,2)	29,2 (7,5)	25,1 (9,7)	1,2
44		21 (В <sub>2</sub> )	9	25,9 (6,7)	70,6 (6,2)	49,2 (12,9)	1,43
44		56 (В <sub>3</sub> )	6	17,9 (5,8)	66,8 (6,6)	49,4 (14,2)	1,35

\* — контрольная группа; n — количество животных в исследуемой группе; M (s) — среднее значение показателя по выборке, s — стандартное отклонение. Чувствительность эндогенного дыхания к амиталу (ам. ч.), %; чувствительность эндогенного дыхания к малонату (мал. ч.), %

на целостный организм (табл. 3). Значения параметров скорости эндогенного дыхания, чувствительности к малонату или амиталу соответствовали тесту на нормальность распределения по критериям Лиллиефорса и Шапиро–Уилка ( $p > 0,05$ ), что позволило использовать дисперсионный анализ для множественных сравнений и количественной оценки влияния факторов вибрации на параметры-отклики.

Степень и значимость влияния независимых факторов общей вибрации — частоты (А), длительности, как и общего количества ежедневных сеансов общей вибрации (В) и их взаимодействия (А · В), оценивали по матрице полного факторного эксперимента. В качестве параметров-откликов, количественно характеризующих влияние факторов А и В на систему энергопродукции сердца, рассматривали показатели  $V_{энд}$ , мал. ч. и ам. ч. Факторы варьировали на трех уровнях. Уровни фактора А ( $q=3$ ): А<sub>1</sub> — отсутствие вибрации, А<sub>2</sub> — общая вибрация 8 Гц, А<sub>3</sub> — общая вибрация 44 Гц. Уровни фактора В ( $p=3$ ): В<sub>1</sub> — 7 сеансов общей вибрации, В<sub>2</sub> — 21 сеанс, В<sub>3</sub> — 56 сеансов. Число опытных точек по дизайну полного факторного эксперимента составило  $p \cdot q=9$ . На каждом сочетании факторов наблюдали по 5 животных ( $n=5$ ). По матрице полного факторного эксперимента проведено  $N=p \cdot q \cdot n=45$  опытов.

Характер изменений показателя  $V_3$  митохондрий отличался по своей направленности на разных уровнях сочетаний факторов частоты (А), длительности вибрации (В). На средней частоте вибрации через 56 сеансов значение этого показателя увеличивалось на 43,5%, тогда как на высокой — к 7–21-му дню наблюдали увеличение на 38–58,8%. Между контролем и группами животных, подвергнутых вибрации с различной частотой и длительностью воздействия (А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub>, А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub>), различия скорости эндогенного дыхания митохондрий не проявились. Однако это не свидетельствовало об идентичности процессов эндогенного дыхания нативных митохондрий сердца кроликов при исследованных сочетаниях факторов, поскольку по данным теста «переживания ткани» и ингибиторного анализа препараты оказались диф-

ференцированными. Показатель  $V_3$  митохондрий миокарда контрольных животных в тесте «переживания ткани» не менялся, но при градациях факторов А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub>, А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub> он достоверно уменьшался на 30–50%. Если у митохондрий *in situ* при действии вибрации происходило увеличение  $V_3$ , то по тесту «переживания ткани» они демонстрировали большую устойчивость.

Значимость различий ( $p$ ) средних значений параметров эндогенного дыхания митохондрий миокарда кроликов на разных уровнях варьирования факторов вибрации (А–В) по критерию множественного сравнения LSD: для **Вэнд** — А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,0147$ , А<sub>1</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>1</sub>  $p=0,046$ , А<sub>1</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,007$ , А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub>  $p=0,025$ , А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,0136$ , А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub>  $p=0,0186$ , А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,006$ ; для **мал. ч.** — А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub>  $p=0,000 \dots$ , А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,022$ , А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,001$ , А<sub>1</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>1</sub>  $p=0,0002$ , А<sub>1</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,023$ , А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,001$ , А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,023$ , А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>1</sub>  $p=0,048$ , А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,000 \dots$ , А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,000 \dots$ , А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,000 \dots$ , А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,000 \dots$ , А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,000 \dots$ , А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,000 \dots$ ; для **ам. ч.** — А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,039$ , А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,049$ , А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,023$ , А<sub>3</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,039$ , А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>2</sub>  $p=0,048$ , А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>3</sub>  $p=0,021$ , А<sub>3</sub>–В<sub>3</sub> и А<sub>3</sub>–В<sub>1</sub>  $p=0,037$ ; содержание белка в ячейке — 2,4 (0,4) мг/мл.

Согласно ингибиторному анализу на уровнях градаций факторов А (частота в Гц) и В (количество сеансов) чувствительность эндогенного дыхания митохондрий сердца к малонату и амиталу значительно менялась по сравнению с контролем. Малонатчувствительное дыхание увеличивалось через 7 сеансов вибрации, и в дальнейшем на обеих частотах возрастало. Изменчивость амиталчувствительности при варьировании факторов вибрации носила менее определенный характер. При всех сочетаниях уровней факторов вибрации (кроме А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>–В<sub>1</sub>) чувствительность  $V_3$  к малонату превышала чувствительность к амиталу (согласно значениям отношения мал. ч./ам. ч.). Уменьшенные соотношения мал. ч./ам. ч. на 7-й сеанс вибрации проявились

■ Таблица 4. Вклад факторов вибрации и их взаимодействия в дисперсию параметров эндогенного дыхания нативных митохондрий сердца кроликов

Параметр-отклик	Факторы вибрации	SS	df	MS	F	p	K, %
V <sub>o</sub>	A	361,4	2	180,7	8,487	0,001	25,2
	B	193,5	2	96,7	4,543	0,017	12,4
	A · B	237,6	4	59,4	2,789	0,041	15,2
	Контролируемые	792,5					52,8
	Неконтролируемые	766,6	36	21,29	–	–	49,2
Мал. ч.	A	6976,75	2	3488,37	33,62	0,0000	40,0
	B	4026,34	2	2013,17	19,4	0,0000	23,0
	A · B	2703,11	4	675,78	6,54	0,0005	15,5
	Контролируемые	13706,2					78,5
	Неконтролируемые	3735,30	36	103,76	–	–	21,5
Ам. ч.	A	716,56	2	358,28	1,137	0,33	4,5
	B	13,06	2	6,53	0,021	0,949	0,08
	A · B	3773,2	4	943,29	2,99	0,031	23,8
	Контролируемые	4502,8					28,38
	Неконтролируемые	11340,0	36	315,0	–	–	71,6

SS — сумма квадратов отклонений параметра-отклика от среднего значения, обусловленная влиянием фактора; df — число степеней свободы; MS — дисперсии; F — критерий Фишера; p — уровень значимости; K — степень влияния факторов вибрации на параметры-отклики. Дисперсии анализируемых признаков в группах, определяемых факторами, проверяли по тестам Левена и Брауна–Форсайта ( $p > 0,05$ ) [13]

на обеих частотах. На частоте 8 Гц оно оказалось весьма значительным и сопряженным со снижением V<sub>o</sub> в тесте «переживания ткани».

Для определения весомости параметров отклика и дальнейшего обоснования интегральной характеристики состояния системы энергопродукции сердца в условиях воздействия вибрации необходимо было количественно оценить ответ исследуемых выходных параметров тканевой биоэнергетики (V<sub>o</sub>, мал. ч. и ам. ч.) миокарда на факторы вибрации с точки зрения их информативности и значимости.

Согласно результатам дисперсионного анализа по одной из его разновидностей — матрице полного факторного эксперимента (табл. 4), в величине, значимости и информативности эффектов исследованных факторов вибрации по совокупности их действия на параметры-отклики биоэнергетики миокарда выявились существенные отличия. В отношении показателей V<sub>o</sub> и мал. ч. значимыми ( $p \leq 0,05$ ) оказались эффекты контролируемых факторов, то есть частоты вибрации и количества сеансов (A и B) и эффекты их взаимодействия A · B. Они обусловили большую часть дисперсии. В обоих случаях весомыми и достоверными оказались вклады частоты вибрации (фактор A) и количество ее сеансов (фактор B). Количественно это выразилось в том, что влияние совокупности контролируемых факторов на изменчивость дисперсии V<sub>o</sub> и малонатчувствительности оказалось на уровне 52,8 и 78,5% соответственно и превысило вклад случайных факторов. В противоположность этому на дисперсию показателя амиталчувствительности достоверно влияло только сочетание факторов A · B вибрации, тогда как вклад случайных факторов более чем в 2 раза превышал вклад контролируемых. На основании полученных

данных были построены линейные модели прогноза параметров-откликов в виде уравнений с разной степенью адекватности:

$$V_o = 18,72 + 0,142 A;$$

$$\text{Мал. ч.} = 35,23 + 0,227 A + 0,268 B;$$

$$\text{Ам. ч.} = 32,57 + 0,197 A - 0,01 B.$$

Коэффициенты регрессии для V<sub>o</sub> и малонатчувствительности оказались статистически значимыми ( $p \leq 0,0057$ ), в отличие от амиталчувствительности ( $p > 0,188$ ). Уравнение прогноза по линейной модели скорости эндогенного дыхания достоверно зависело от частоты общей вибрации, а его чувствительность к малонату — как от частоты, так и от длительности.

Моделирование градаций метаболических состояний митохондрий [16] с помощью экзогенных субстратов окисления и разобщителя (см. табл. 4) подтвердило преимущественную активацию сукцинатзависимой энергетики тканей в условиях пролонгации вибрационного воздействия и позволило соотносить их с этапами биоэнергетической гипоксии [59, 60, 94, 95].

В митохондриях миокарда скорости окисления композиции глутамата и малата в состоянии «покоя» и «активности» независимо от длительности вибрации были ниже, чем скорости окисления янтарной кислоты. Падение V<sub>глы+мал</sub> через 56 сеансов составило 43% ( $p \leq 0,05$ ). Динамика окисления НАД-зависимых субстратов в «активном» метаболическом состоянии характеризовалась депрессией значений: через 21 сеанс — на 21% ( $p \leq 0,05$ ), а через 56 сеансов — на 30% ( $p \leq 0,01$ ). При 44 Гц V<sub>як</sub> достигла максимума к 21-му сеансу, возрастая на 77% ( $p \leq 0,05$ ), и снизилась к 56-му сеансу, тем не менее оставаясь выше показателей интактных животных на 38,5% ( $p \leq 0,05$ ).



Результирующую наиболее значимого ( $p \leq 0,05$ ) и весомого влияния (по величине  $K, \%$ , помеченной в таблице 5 жирным шрифтом) совокупности контролируемых факторов общей вибрации на изменчивость параметров-откликов наблюдали со стороны эндогенного дыхания и окисления глутамата и малата в состоянии покоя ( $V_{\text{глю} + \text{мал}}$ ) и максимальной функциональной нагрузки на дыхательную цепь ( $V_{\text{глю} + \text{мал}, p}$ ). Вариабельность откликов (по совокупности межгрупповых различий) после добавки сукцината к нативным митохондриям кардиомиоцитов *in vitro* в состоянии «покоя» и «активности» оказалась менее выраженной.

Обобщенный результат дисперсионного анализа явился отражением способности экзогенной янтарной кислоты оказывать мощное энергизирующее действие на митохондрии и тем самым «поглощать» часть изменчивости, обусловленной вибрацией. Можно предположить также, что регулирующее действие данного субстрата проявлялось *in vitro* таким образом, что его следует интерпретировать не как «шум» из-за неучтенных (случайных) условий эксперимента, а как частичное нивелирование экзогенным субстратом дизрегуляционных эффектов вибрации на уровне функционирования систем энергопродукции миокарда. Возможно еще одно объяснение: нелинейность зависимости выходных эффектов от входных факторов и их сочетаний.

В печени на фоне угнетения окисления экзогенных НАД-зависимых субстратов в состоянии «покоя» скорость метаболизма экзогенной янтарной кислоты возрастает на 44% ( $p \leq 0,05$ ) после 21 сеанса вибрации 44 Гц и угнетается по мере пролонгации воздействия. В состоянии «активности» митохондрий печени окисление янтарной кислоты на фоне высокочастотной вибрации превосходит темпы окисления данного субстрата на фоне вибрации 8 Гц в два раза ( $p \leq 0,01$ ) через 21 сеанс. Однако к 56-му сеансу показатель  $V_{\text{як}, p}$  начинает снижаться.

Стимулирующее действие экзогенной янтарной кислоты на дыхание митохондрий почки при воздействии вибрации 44 Гц ( $V_{\text{як}}$ ) практически отсутствовало. Депрессия показателя на фоне вибрации 44 Гц колебалась на уровне 59–22–17% в сроки 7–21–56 сеансов соответственно. В активном состоянии митохондрии почки, так же как митохондрии сердца и печени, окисляли экзогенную янтарную кислоту более интенсивно, чем НАД-зависимые субстраты. На фоне вибрации наблюдался подъем  $V_{\text{як}, p}$  на 40% относительно интактного контроля, сохраняющийся к завершению вибрационного воздействия.

В ткани миокарда через 7 сеансов вибрации КП<sub>мал, ч</sub> возрастал в 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с показателем интактной контрольной группы (табл. 5); через 21 сеанс — в 1,8 раза ( $p \leq 0,05$ ), оста-

■ Таблица 5. Влияние факторов общей вибрации и эффекты их взаимодействия на дисперсии кинетических параметров активности систем энергопродукции миокарда кроликов

Параметр-отклик	Факторы вибрации	SS	df	MS	F	p	K, %
$V_z$	A	141,2	2	70,6	1,56	0,221	3,6
	B	13,1	2	6,6	0,14	0,866	0,3
	A · B	1439,5	4	359,9	7,9	0,000	36,8
	Контролируемые	1593,8					<b>40,7</b>
	Неконтролируемые	2322,2	51		–	–	59,3
$V_{\text{глю} + \text{мал}}$	A	975,3	2	487,6	13,86	0,000	30,5
	B	190,2	2	95,1	2,7	0,077	5,9
	A · B	240,6	4	60,2	1,7	0,162	7,5
	Контролируемые	1406,1					<b>44,0</b>
	Неконтролируемые	1789,6	51		–	–	56,0
$V_{\text{як}}$	A	1977,7	2	988,86	7,69	0,001	19,9
	B	325,6	2	162,8	1,27	0,294	3,3
	A · B	1077,6	4	269,4	2,09	0,095	10,9
	Контролируемые	3380,9					34,1
	Неконтролируемые	6533,7	51		–	–	65,9
$V_{\text{глю} + \text{мал}, p}$	A	1532,8	2	766,4	3,02	0,057	7,05
	B	3495,6	2	1747,8	6,88	0,002	16,07
	A · B	3769,4	4	942,3	3,71	0,010	17,33
	Контролируемые	8797,8					<b>40,5</b>
	Неконтролируемые	12925,2	51				59,5
$V_{\text{як}, p}$	A	112,8	2	56,4	0,29	0,749	0,91
	B	1212,3	2	606,2	3,12	0,05	9,80
	A · B	1128,2	4	282,0	1,45	0,23	9,10
	Контролируемые	2453,3					19,9
	Неконтролируемые	9874,8					80,1

SS — сумма квадратов отклонений параметра-отклика от среднего значения, обусловленная влиянием фактора; df — число степеней свободы; MS — дисперсии; F — критерий Фишера; p — уровень значимости; K — степень влияния факторов вибрации на параметры-отклики. Гомогенность дисперсий признаков, анализируемых в группах фиксированных факторов, проверяли по тестам Левена и Брауна–Форсайта ( $p > 0,05$ )

■ Таблица 6. Влияние различных режимов вибрации на соотношение активности ФАД- и НАД-зависимых оксидаз митохондрий сердца, печени и почки кролика

Факторы вибрации			Отношение активности ФАД- и НАД-зависимых оксидаз митохондрий сердца, печени и почки в разных метаболических состояниях								
частота, Гц	число сеансов вибрации	n	Коэффициент приращения эндогенного дыхания (КПэ)			Коэффициент приращения дыхания в покое (КПп)			Коэффициент приращения разобщенного дыхания (КПр)		
			сердце	печень	почка	сердце	печень	почка	сердце	печень	почка
0	0	20	0,79	1,42	1,17	1,51	1,47	1,8	0,98	1,39	0,97
44	7	10	1,2	1,7	1,53	1,5	1,64	1,3	0,95	2,27	2,73
44	21	10	1,43	1,7	1,1	2,6	2,61	1,9	1,9	2,26	1,73
44	56	10	1,46	0,87	0,91	3,62	1,5	1,87	1,85	2,33	1,45

Показатели КПэ, КПп, КПр даны в относительных единицах измерения; n — количество животных в исследуемой группе

ваясь без существенных изменений к 56-му сеансу. В ткани печени также увеличивалась чувствительность к малонату на 20%, свидетельствуя о накоплении эндогенной янтарной кислоты и увеличении ее вклада в процессы окисления. Однако после 56 сеансов вибрации  $KP_{\text{мал. ч}}$  снижались на 40% ( $p < 0,01$ ), ниже уровня контроля, отражая начавшиеся процессы повреждения в ФАД-зависимом звене дыхательной цепи и истощение механизмов адаптивных перестроек, реализуемых прежде всего через активизацию сукцинатдегидрогеназной биоэнергетики [30, 94]. Динамика показателя  $KP_{\text{мал. ч}}$  почки была аналогичной.

Для всех изучаемых тканей выявлено, что по мере накопления эффектов вибрации происходило угнетение окисления НАД-зависимых субстратов митохондрий. Активизация (печень, почка) и даже гиперактивация сукцинатзависимой энергопродукции кардиомиоцитов приводили к феномену «разрыхления» дыхательной цепи [51–53], нарушению ее электронтранспортной функции и началу биоэнергетической гипоксии [59, 60]. Соотношение активности ФАД- и НАД-зависимых оксидаз митохондрий тканей иллюстрирует наибольшую чувствительность к вибрационному воздействию ткани миокарда (табл. 6).

Сукцинатдегидрогеназная активность митохондрий миокарда после 7–21 сеанса имела незначительные различия с показателем интактного контроля, однако через 56 сеансов наблюдался существенный подъем стимулирующего эффекта сукцината на 66% ( $p \leq 0,01$ ), нашедший отражение в коэффициенте стимуляции  $KC_{\text{як}}$ . Стимулирующее действие 2,4-ДНФ на сукцинатное дыхание практически не зависело от количества сеансов. В этом случае отклик на вибрационное воздействие сводился к достоверному смещению всех значений  $KP_{\text{як}}$  в диапазоне на 10–30% ниже по сравнению с показателями интактных животных. Тормозящего влияния 2,4-ДНФ на сукцинатное дыхание не наблюдали, показатель  $KP_{\text{як}}$  оставался  $\leq 1,0$ . Регулирующая роль НАД-зависимых субстратов была слабо выражена, что свидетельствовало о снижении активности этого участка дыхательной цепи и уменьшении его

вклада в энергообеспечение ответной реакции миокарда на вибрацию, тогда как роль ФАД-зависимых субстратов возрастала по мере суммации эффектов вибрации и в наибольшей мере проявилась в состоянии «покоя» через 56 сеансов, о чем свидетельствует значение  $KC_{\text{як}} > 3,5$ . Однако снижение  $KP_{\text{як}}$  к уровню  $1,0 \pm 0,1$  ед. подчеркивает диссонанс между показателями переходных состояний митохондрий, подчиняющийся формуле «КС растет, а КР падает», выявляя тенденции к гиперактивации [63] системы окисления янтарной кислоты с признаками «истощения».

В печени коэффициенты  $KC_{\text{глу+мал}}$  и  $KP_{\text{глу+мал}}$  в ответ на вибрационное воздействие угнетаются. Исчезает стимулирующее действие разобщителя ( $KP_{\text{глу+мал}} \rightarrow 1,0$ ). Это, вероятно, происходит по причине «разрыхления» структурно-функциональной организации дыхательной цепи на данном участке и нарушения процессов переноса электронов. Следствием этого является нарушение трансформации энергии в различные формы (АТФ, ГТФ,  $\Delta\mu\text{H}$ ,  $\Delta\mu\psi$  и др.) [1, 7, 11, 12] и развитие низкоэнергетической сдвига или биоэнергетической гипоксии.

В почке на фоне вибрации также отсутствовало активизирующее воздействие экзогенных НАД-зависимых субстратов, что свидетельствует о нарушениях в зоне первого фермент-субстратного комплекса дыхательной цепи. Напротив, стимуляция дыхания в системе окисления янтарной кислоты более выражена и аналогична картине, которая описана для печени. Коэффициент  $KP_{\text{глу+мал. р}}$  падает ниже уровня контроля на 66–20% ( $p \leq 0,05$ ) и достигает значения, близкого к 1,0. Это свидетельствует об отсутствии стимулирующего действия 2,4-ДНФ и коррелирует с утратой сопряженности между окислением и фосфорилированием и, следовательно, с уровнем энергетической регуляции дыхания в зоне НАД-зависимого звена дыхательной цепи. Картина глубоких изменений усугубляется тем, что стехеометрически на НАД-зависимом участке дыхательной цепи митохондрий в физиологических условиях функционируют 3–4 пункта сопряжения и теоретически эффективность окислительного фосфорилирования в 1,5–2 раза выше, чем на ФАД-зависимом

участке [8]. При окислении янтарной кислоты в митохондриях почки стимулирующее действие 2,4-ДНФ проявилось неоднозначно, коэффициент  $КС_{\text{як.р}}$  монотонно и недостоверно превосходил показатель интактного контроля на 14–30%. Таким образом, дыхательная цепь почки откликается на изменения режимов вибрации перестройками окислительного метаболизма, так же как в миокарде и печени развивалась митохондриальная дисфункция по типу биоэнергетической гипоксии I–II стадии.

Морфологически в сердце (рис. 1, А, Б) по мере накопления количества сеансов общей вибрации наблюдалось нарастание набухания клеток кардиомиоцитов и их ядер с дистрофическими изменениями. Выявлялись признаки гипертрофии, увеличение зон дистрофии и их распространение от субэндокардиальных в интрамуральные отделы, нарастание стромально-клеточной реакции и полнокровия сосудов сердечной мышцы. В интерстиции миокарда увеличивалась популяция клеток лимфоцитарного и гистиоцитарного типа строения. На фоне развивающейся гипертрофии кардиомиоцитов накапливались очаги некроза и разрушения стромальных элементов. Микроангиопатии проявлялись отеком стенок сосудов, их спазмом, разрежением артериальной и капиллярной сети. Изменения в системе микроциркуляции, очевидно, явились одной из предпосылок, ведущих к ишемической гипоксии миокарда как проявления вибрационно-опосредованных повреждений, источника низкоэнергетического сдвига в митохондриях и наиболее неблагоприятной морфологической картины ткани среди исследованных режимов вибрации.

При низкочастотной (8 Гц) вибрации морфологические перестройки в печени были минимальными, тогда как после высокочастотной вибрации (44 Гц) наблюдались выраженные патологические изменения гепатоцитов (рис. 2, А, Б).

По мере накопления вибрационного воздействия часть гепатоцитов уплотщалась, часть набухала, у части наблюдались явления вакуолизации. Процесс усиливался по направлению к перипортальной зоне. Интенсивность окраски клеток ослабевала и приобретала мелкозернистый характер. Ядра набухали, умеренно нарастали признаки гипертрофии клеток. Через 21 сеанс наблюдались полное нарушение синусоидной структуры по направлению к перипортальной зоне, деструкции печеночных балок, спадание синусоидов, развитие очагов некроза. Эозинофильность цитоплазмы клеток значительно сокращалась, у большинства клеток она становилась прозрачной с мелкой и редкой зернистостью и признаками вакуолизации. Усиливалась гетерогенность гепатоцитов по форме и размерам: большинство клеток были набухшими с пикнотичными ядрами, встречались пустотелые гепатоциты. Однако через 56 сеансов отмечали признаки развития компенсаторного типа: интенсивность окрашивания и количество двухъядерных гепатоцитов увеличивались,

повышалась зернистость цитоплазмы и базофильность окраски ядер. На отдельных участках ткани появлялись признаки балочного строения и просветы синусоидов. Гетерогенность гепатоцитов по форме и размерам нарастала в перипортальном отделе. Отмечалось полнокровие портальной вены и набухание артерий.

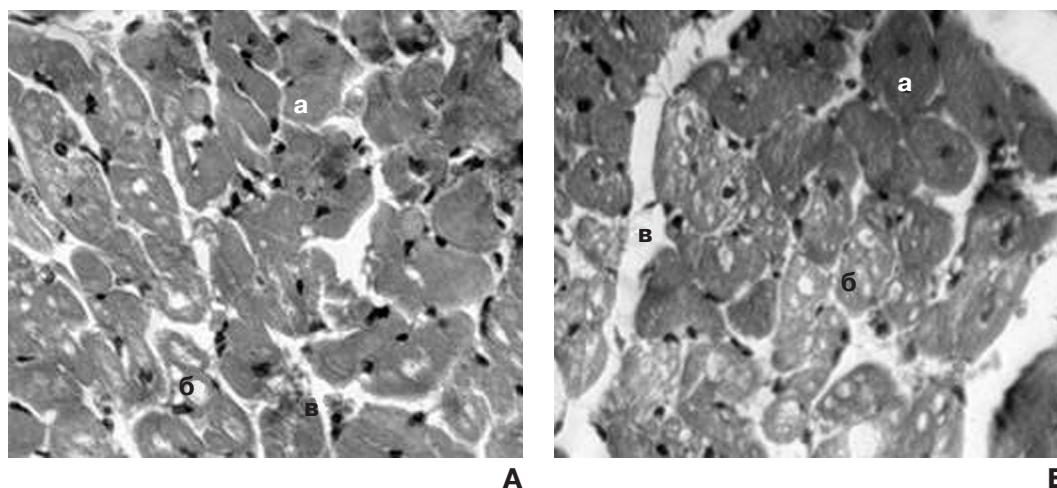
В почках (рис. 3, А, Б) в условиях высокочастотной общей вибрации клубочки увеличивались в размерах и приобретали неправильную форму. Просвет капсулы Боумена–Шумлянского неравномерно увеличивался, клеточное соотношение в клубочке изменялось, клетки становились более округлой формы с плотным хроматином, нефротелий утолщался. Сокращалась численность клеток эндотелиального типа и подоцитов и одновременно возрастало полнокровие клубочков, в некоторых из них наблюдался диапедез эритроцитов в просвет капсулы Боумена–Шумлянского. Проявлялись элементы набухания интерстиция. В эпителии извитых канальцев отмечались признаки дистрофических изменений, в просветах появлялись эозинофильные гранулы и хлопья белка. Усиление полнокровия в интерстиции мозгового слоя приобретало зональный характер.

По мере нарастания количества сеансов вибрационного воздействия клубочки становились гетерогенными по форме и размерам. Появлялись очаги «западания», просвет капсулы Боумена–Шумлянского увеличивался, нефротелий утолщался. Гетерогенность клеточного состава в клубочках усиливалась. Просматривалась гиперхромность ядер. Возрастало полнокровие клубочков, усиливалось набухание и отечность интерстиция. Эпителий извитых канальцев и собирательных трубочек набухал, просвет канальцев уменьшался, обнаруживались хлопья белка. Наблюдалось полнокровие интерстициальных пространств, появлялись зоны кровоизлияний.

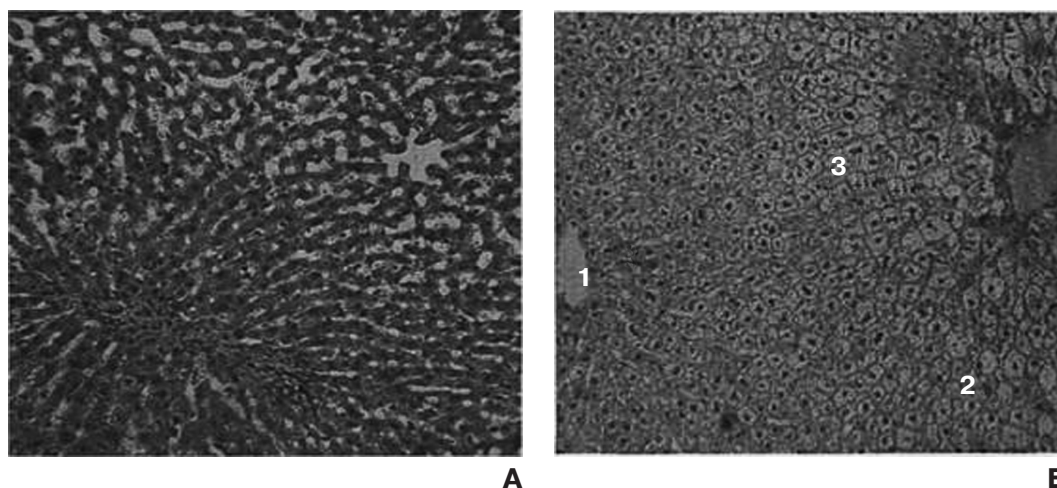
После 56 сеансов общей вибрации все вышеперечисленные признаки дистрофических изменений приобретали генерализованный характер, наиболее выраженный в корковом слое почки, который является наиболее активным потребителем энергетических ресурсов. Со стороны клубочкового аппарата развивалась гломерулопатия экссудативного интра- и экстракапиллярного типа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

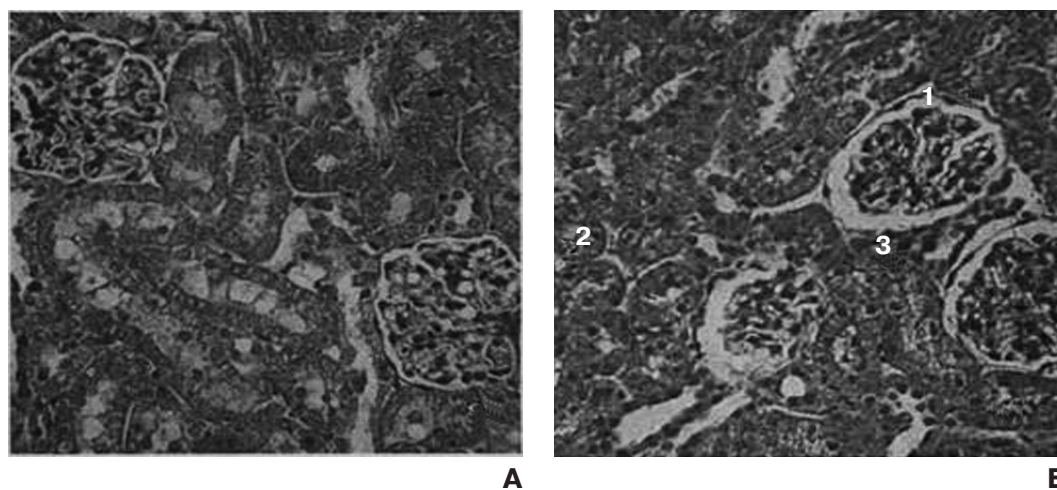
Исходно у контрольных животных наблюдали преобладание амиталчувствительного дыхания над малонатчувствительным. Причина подобного соотношения для миокарда обусловлена преимущественным вкладом свободных жирных кислот в эндогенную окислительную активность, что присуще биоэнергетике сердца всех млекопитающих и человека. Весь функциональный диапазон данного органа обеспечивается энергией за счет окислительно-



■ Рисунок 1. Влияние вибрации длительностью 56 сеансов с частотой 8 Гц (А) и 44 Гц (Б) на морфогистологическую характеристику миокарда кроликов: А: *a* — сформировавшаяся гипертрофия кардиомиоцитов; *б* — зональная вакуольная дистрофия; *в* — слабый межклеточный отек; Б: *a* — сформировавшаяся гипертрофия кардиомиоцитов; *б* — вакуольная дистрофия; *в* — отек интерстиция межпучкового характера. Окраска гематоксилин — эозин, ув.  $\times 320$



■ Рисунок 2. Влияние пролонгированной высокочастотной (44 Гц) общей вибрации на морфогистологическую характеристику печени кроликов: А — интактное животное; Б — 56 сеансов вибрации. Цифрами обозначены: 1 — синусоиды с балочным строением, 2 — зональный некроз, 3 — двухъядерные гепатоциты. Окраска гематоксилин — эозин, увеличение  $\times 180$



■ Рисунок 3. Влияние пролонгированной высокочастотной (44 Гц) общей вибрации на морфогистологическую характеристику коркового слоя почки кроликов: А — интактное животное; Б — 56 сеансов вибрации. Цифрами обозначены: 1 — «лапчатость клубочка», 2 — отек интерстиция, 3 — утолщение нефротелия. Окраска гематоксилин — эозин, увеличение  $\times 320$

го фосфорилирования [7, 18]. Метаболизм печени можно отнести к окислительному типу [1, 11, 12]. Основным энергетическим субстратом для печени также являются жирные кислоты, энергетический метаболизм которых осуществляется исключительно за счет окисления в митохондриях. В связи с высокой способностью печени к синтезу кетонных тел окисление углеводов в этом органе снижено и преобладает глюконеогенез. Однако, в отличие от миокарда, часть окислительной активности печени не контролируется адениловыми нуклеотидами, а зависит от поступления веществ, которые подвергаются деградации, или от окислительно-восстановительного потенциала [7]. Митохондрии интактных контрольных животных были дифференцированы в соответствии с общей интенсивностью энергетического обмена во внутренних органах в последовательности: митохондрии миокарда > митохондрии почки > митохондрии печени.

Представленные результаты исследования показали, что на уровне митохондрий сердца, печени и почки процессы энергетической регуляции дыхания, моделируемые *in vitro* в неполном цикле метаболических градаций «покой — разобщение» [16] по мере пролонгации вибрации перестраиваются и/или нарушаются для обеспечения гомеостатических функций на новом для организма уровне [51–53], что находит выражение в формировании биоэнергетической гипоксии [59, 60]. Очевидно, что причины перестроек и нарушения в дыхательной цепи обусловлены патофизиологическими эффектами вибрации и в свою очередь усугубляют их.

Во всех изученных тканях происходили качественно однотипные процессы: по мере снижения активности НАД-зависимого звена дыхательной цепи митохондрий той или иной ткани постепенно включались амиталрезистентные метаболические потоки, выполняющие компенсаторную роль в условиях гипоксии и способствующие сохранению синтеза АТФ на цитохромном участке [8, 41, 60, 61]. При пролонгации вибрационного воздействия ткани вступали в I фазу биоэнергетической гипоксии [59]. Доказано, что изменения, характерные для этой фазы, начинаются на субстратном участке дыхательной цепи, в области железо-серных центров I фермент-субстратного комплекса (NADH:убихинон-оксидоредуктаза) [7, 8]. Гипоксическое снижение парциального давления кислорода (результат начальной активации окислительного фосфорилирования) сопровождается полным восстановлением пиридиннуклеотидов (НАД · Н и НАДФ) и подавлением переноса электронов на участке НАД · Н — CoQ. В результате этого падает интенсивность окисления НАД · Н-зависимых субстратов, окислительного фосфорилирования, снижается чувствительность к специфическим ингибиторам НАД · Н-оксидазного участка дыхательной цепи.

Подавление работы малат-аспартатного шунта, а также дефицит альфа-кетоглутарата и аспартата

способствуют реализации молекулярных механизмов адаптации клетки к стрессу через специфический белковый фактор, индуцируемый при гипоксии HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor) [84]. Фактор HIF-1 $\alpha$ , идентифицированный в сердце, печени, почке, транслоцируется в ядро, и начинается экспрессия широкого спектра HIF-1-зависимых генов-мишеней и синтез защитных адаптивных белков [5].

В условиях гипоксии ингибируется НАД · Н-оксидазное звено дыхательной цепи, однако флавопротеиды (ФАД · Н) и цитохромный участок сохраняют окисленность и способны работать при потенциале полувосстановления субстратных пар, близком к 0V [7], что обеспечивает преимущественный метаболизм эндогенной янтарной кислоты на уровне II фермент-субстратного (сукцинатзависимого) комплекса. При этом цикл трикарбоновых кислот функционирует в усеченной форме с шунтированием его наиболее медленных участков [53]. Снижение чувствительности к амиталу и преобладание малонатчувствительного дыхания при суммировании вибрационных воздействий на обеих частотах имело универсальный характер в том смысле, что поддавалось адекватной количественной оценке и проявлялось как при множественном сравнении средних значений показателей, так и при дисперсионном анализе влияния градаций факторов вибрации на параметры тканевой биоэнергетики миокарда.

Известно, что эндогенная янтарная кислота помимо участия в электронтранспортной функции митохондрий и конформационных изменениях мембран [8] является лигандом G-белок-сопряженных рецепторов (G-protein coupled receptor — GPCR), GPR91 [13, 21, 41]. Данный субстрат, обеспечивая активность ФАД-зависимого звена дыхательной цепи и экспрессию HIF-1 $\alpha$ , поддерживает метаболический и энергетический гомеостаз. Зависимые HIF-1-гены-мишени способствуют доставке кислорода через механизмы усиления транспорта глюкозы и ионов, продукции АТФ, клеточной пролиферации. Индуцируемый гипоксией фактор-1 активирует транскрипцию факторов ангиогенеза (VEGF) и эритропоэза [41]. В совокупности вышеперечисленные механизмы создают новое стационарное состояние энергетического обмена в условиях стресса. Это состояние характеризует доминирование ФАД-оксидазного перед НАД-оксидажным путем окисления, что нашло подтверждение в нашем исследовании применительно к биоэнергетике сердца, печени и почки. Показатели низкой сопряженности окислительного фосфорилирования в тканях свидетельствуют о начале перехода систем энергообеспечения во II стадию биоэнергетической гипоксии [59].

Генерализованные нарушения в сопрягающих системах ФАД- и НАД-зависимых участков дыхательной цепи митохондрий исследованных органов указывают на формирование низкоэнергетиче-

ского сдвига в энергообеспечении сердца, печени и почки. Очевидно, что вследствие митохондриальной дисфункции нарушается работа ряда насосов ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы), ионных обменников ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{OH}^-/\text{Cl}^-$ ) и котранспортеров ( $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  и  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$ ), в частности в кардио- и гепатоцитах [1, 15, 31, 48]. Неблагоприятные биоэнергетические эффекты вибрации явились причиной морфологических изменений: нарастания дистрофии тканей, уменьшения капиллярной сети, спазма артериол, увеличения межклеточного отека, постепенного расширения очагов кровоизлияний и некроза. Продление и ужесточение режимов вибрационного воздействия приводили не только к фазным изменениям интенсивности окислительных процессов и их энергетической регуляции во внутренних органах экспериментальных животных, но и к нарушению межорганных взаимосвязей функциональной активности митохондрий как элементов системы более высокого уровня энергообеспечения гомеостатических функций организма [4].

Очевидно, что вибрация не только нарушает функцию, но и повреждает митохондрии, так как на уровне всех изученных тканей выявлены признаки гиперактивации системы окисления янтарной кислоты (ФАД-зависимого звена или II фермент-субстратного комплекса), сопровождаемые явлениями торможения и разобщения окислительного фосфорилирования. Поэтому с целью сохранения метаболического [13, 21, 41, 53] и кислородного [84, 88] гомеостаза в условиях вибрационно-опосредованной гипоксии целесообразно не только повышать окислительную и сопрягающую активности ФАД-зависимого участка дыхательной цепи митохондрий, но и сдерживать функцию сукцинатдегидрогеназы с помощью экзогенно вводимой янтарной кислоты, способной регулировать энергетический обмен и корригировать патологические состояния, сопряженные с гипоксией [59, 60, 98].

## ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Akopova OV, Nosar VI, Mankovskaya IN, Sagach VF. Calcium uptake in rat liver mitochondria accompanied with the activation of ATR-dependent potassium channel. *Biochem.* 2008;73(10):1429-1437.
2. Ando H, Noguchi R, Ishitake T. Frequency dependence of hand-arm vibration on palmar sweating response. *Scand. J. Work Environ. Health.* 2002;28(5):324-327.
3. Babsky AN, Doliba NM, Doliba NM, et al. Malonate sensitivity of mitochondria respiration under hypoxia and recovery as a test of endogenous Succinate oxidation. *Hypoxia Med J.* 1998;6:28.
4. Bakeeva LE, Chentsov YS, Skulachev VP. Intermitochondrial contacts in myocardiocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1983;15:413-420. doi: 10.1016/0022-2828(83)90261-4.
5. Ben-Dov C, Hartmann B, Lungren J, Valcarcel J. Genome-wide analysis of alternative pre-mRNA splicing. *J Biol Chem.* 2008;283(5):1229-1233. doi: 10.1074/jbc.R700033200.
6. Bernardi P, Scorrano L, Colonna R, et al. Mitochondria and cell death. Mechanistic aspects and methodological issues. *Eur J Biochem.* 1999;264(6):687-701. doi: 10.1046/j.1432-1327.1999.00725.x.
7. Биохимия. Молекулярные основы клеточной структуры и функции. Альберт Л. Ленинджер. – Нью-Йорк, 1972. – 957 с. [Leninger AL. *Biochemistry. The molecular basis of cell structure and function.* New York; 1972. 957 p. (In Russ).]
8. Биологические мембраны / Под ред. Д.С. Парсонса. – М.: Атомиздат, 1978. – 230 с. [Biological membranes. Ed. by D.S. Parsons. Oxford: Clarendon Press; 1975. 230p. (In Russ).]
9. Бодиенкова Г.М., Куршевенко С. И. Нейроиммуногуморальные взаимодействия при воздействии локальной вибрации на работающих // Медицина труда и пром. экология. – 2015. – № 4. – С. 39–43. [Bodienkova GM, Kurchevenko SI. Neuroimmune and humoral interactions under exposure to local vibration in workers. *Meditsina truda i prom. ekologiya.* 2015;4:39-43. (In Russ).]
10. Bovenzi M. Autonomic stimulation and cardiovascular reflex activity in the hand-arm vibration syndrome. *Kurume Med J.* 1990;37:85-94. doi: 10.2739/kurumemedj.37.SUPPLEMENT\_S85.
11. Brustovetsky NN, Maevsky EI, Kolaeva SG, et al. Role of the Ca cycle in uncoupling of oxidative phosphorylation in liver mitochondria of cold-acclimated rats. *Biochem. Physiol.* 1985;82(3):545-547.
12. Brustovetsky NN, Maevsky EI. Regulation of the degree of coupling of oxidation with phosphorylation in rat liver mitochondria: relation to thermogenesis. IV Europ. *Bioenerg Conf Short Reports.* 1986;4:381.
13. Buravkova LB, Andreeva ER, Rylova YV. Recept reseanches in modern medicine. Cambridge; 2011. P. 43-48.
14. Campbell KB. Myocardial contractile depression from high – frequency vibration is not due to increased cross – bridge breakage. *Amer J Physiol.* 1998;274:1141-1151.
15. Carafoli E. The calcium rumping ATFase of plasma membrane. *Ann Rev Physiol.* 1991;53(4):531-547. doi: 10.1146/annurev.ph.53.030191.002531.
16. Chance B, Williams G. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. *J Biol Chem.* 1955; 217(1):324-327.
17. Chance B, Hollunger G. The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria. *J Biol Chem.* 1961;236(5):1534-1584.
18. Chidsey CA. Biochemical studies of energy production in the failing human heart. *J Clin Invest.* 1966;45:40-50. doi: 10.1172/JCI105322.
19. Cline GW, Vidal-Puig AJ, Dufour S, Cadman KS, et al. In vivo effects of uncoupling protein-3 gene disruption on mitochondrial energy metabolism. *J Biol Chem.* 2001; 276(7):20240-20244. doi: 10.1074/jbc.M102540200.
20. Cohen B, Gold D. Mitochondrial cytopathy in adults: What we know so far. *Cleveland Clinic J Medicine.* 2001;68(7):625-642. doi: 10.3949/ccjm.68.7.625.
21. Correa PR, Kruglov EA, Thompon M. Succinate is a paracrine signal for liver damage. *J Hepatology.* 2007;47(2):262-269. doi: 10.1016/j.jhep.2007.03.016.
22. Crompton M. Mitochondrial intermembrane functional complexes and their role in cell death. *J Physiol.* 2000;11:11-21. doi: 10.1111/j.1469-7793.2000.00011.x.

23. Di Lisa F, Bernardi P. Mitochondrial function as a determinant of recovery or death in cell response to injury. *Mol Cell Biochem.* 1998;184(6):379-391. doi: 10.1023/A:1006810523586.
24. Di Lisa F, Menabo R, Canton M, Petronilli V. The role of mitochondria in the salvage and the injury of the ischemic myocardium. *Biochim Biophys Acta.* 1998;1366(8):69-78. doi: 10.1016/S0005-2728(98)00121-2.
25. Dodds PS, Rothman DH, Weitz JS. Re-examination of the "3/4-law" of metabolism. *J Theor Biol.* 2001;209:9-27. doi: 10.1006/jtbi.2000.2238.
26. Drace-Holland A J. Infarct size in rabbits: a modified method illustrated by the effects of propranolol and trimetazidine. *Basic Res Cardiol.* 1993;88(3):250-258.
27. Driver C, Georgiou A. How to re-energize old mitochondria without shooting yourself in the foot. *Biogerontology.* 2002; 3:103-106. doi: 10.1023/A:1015280018400.
28. Estabrook RW. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurements of ADP: O ratios. In: *Methods in enzymology.* Ed. By RW Estabrook and ME Pellman. Acad Press. 1967;10:41-47.
29. Farkkila A, Pyykko J, Heinonen E. Vibration stress the autonomic nervous system. *Kurume Med J.* 1990;37:53-60. doi: 10.2739/kurumemedj.37.SUPPLEMENT\_S53.
30. Fedotcheva NI, Sokolov AP, Kondrashova MN. Nonenzymatic formation of succinate in mitochondria under oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2006; l(6):56-64.
31. Foell JD, Balijepalli RC, Delisle BP, et al. Molecular heterogeneity of calcium channel beta-Subunits in canine and human heart: evidence for differential subcellular localization. *Physiol Genomics.* 2004;17:183-200. doi: 10.1152/physiolgenomics.00207.2003.
32. Goa J. A micro biuret method for protein determination. Determination of total protein in cerebrospinal fluid. *Scand J Clin Lab Invest.* 1953;5:218-222.
33. Горенков Р.И., Любченко П.Н., Казанчан П.О., и др. Ультразвуковое сканирование сонных артерий у больных вибрационной болезнью // Кардиология. – 1999. – № 5. – С. 57–61. [Gorenkov RV, Lyubchenko PN, Kazanchyan PO, et al. Ultrasound scanning of carotid arteries in patients with vibration disease. *Kardiologiya.* 1999;5:57-61. (In Russ).]
34. Gerdes AM, Capasso JM. Structural remodeling and myocardial dysfunction of cardiac myocytes in heart failure. *J Cell Cardiol.* 1995;27:849-856. doi: 10.1016/0022-2828-(95)90000-4.
35. Greenstein D, Kester RC. The role leukocytes in the pathogenesis of vibration — induced white finger. *Angiology.* 1998;49(11):915-922. doi: 10.1177/00033197980-4901107.
36. Griffin MJ, Bovenzi M. Dose-response patterns for vibration-induced white finger. *Occup Environ Med.* 2003;60(1):16-26. doi: 10.1136/oem.60.1.16
37. Grishina EV, Maevsky EI, Brustovetsky NN, Okon MS. Energy efficiency of anaerobic substrate transformation in mitochondria in rats. *Hypoxia Medical J.* 1996;2:30.
38. Halestrap AP, Doran E, Gillespie JP, O'Toole A. Mitochondria and cell death. *Biochemical Society Transactions.* 2000;28(2):170-177. doi: 10.1042/bst0280170.
39. Hansford R, Naotaka T, Pepe S. Mitochondria in heart ischemia and aging. *Biochem Soc Symp.* 1999;66(1): 141-147.
40. Harada N. Cold-stress tests involving finger skin temperature measurement for evaluation of vascular disorders in hand-arm vibration syndrome: review of the literature. *Int Arch Occup Environ Health.* 2002; 75(1-2): 14-19.
41. He W, Miao FJ, Lin DC, et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G- protein-coupled receptors. *Nature.* 2004;429:188-193. doi: 10.1038/nature02488.
42. Inaba R, Okada A. Protection against the lethal effects of whole body vibration by the alpha-adrenergic system in rat. *Jpn J Exp Med.* 1988;58(5):207-211.
43. Ishitake T. Hemodynamic changes in skin microcirculation induced by vibration stress in the conscious. *Kurume Med J.* 1990;37:235-245. doi: 10.2739/kurumemedj.37.235.
44. Измеров Н.Ф. Роль профпатологии в системе медицины труда // Медицина труда и пром. Экология. – 2008. – № 11. – С. 1–11. [Izmerov NF. Role of professional pathology in the system of medicine of labor. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya.* 2008;11:1-11. (In Russ).]
45. Issever H, Aksoy C, Sabuncu H, Karan A. Vibration and its effects on the body. *Med Princ Pract.* 2003;12(1):34-38. doi: 10.1159/000068155.
46. Janssen PM. The effect of applied mechanical vibration on two different phases of rat papillary muscle relaxation. *Pflugers Arch.* 1997;434(6):795-800. doi: 10.1007/s004240050467.
47. Kakosy T. Vibration disease. *Baillieres Clin Rheumatol.* 1989(4):25-50.
48. Kang TM, Hilgemann DW. Multiple transport modes of the cardiac Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger. *Nature.* 2004;427:544-548. doi: 10.1038/nature02271.
49. Карецкая Т.Д., Пфаф М.А., Чернов О.Е. Профессиональные заболевания на железнодорожном транспорте // Мед. труда и пром. экология. 2015. – №1. – С. 1–5. [Karetskaya TD, Pfaf VF, Chernov OT. Occupational diseases on railway transport. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya.* 2015;1:1-5. (In Russ).]
50. Kohout J, Huzi F, Bejckova H, Soukupova K. Treatment of vascular disease caused by vibration. *Cent Eur J Public Health.* 1995;3:137-138.
51. Kondrashova M, Gogvadze V, Babsky A, Medvedev B. Succinic acid oxidation as the only energy support of intensive Ca<sup>2+</sup> uptake by mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982;109(2):376-381. doi: 10.1016/0006-291X(82)91731-4.
52. Kondrashova M, Grigorenko E. Natural mitochondria well conserve their state in organism. *Third Eur Bioenerg Conf Reports.* Hannover: Congr. Ed.; 1984;3B:711-712.
53. Kondrashova MN, Kuznetzova GD. Succinic acid as a physiological signal molecule. Manchester; New York: Manchester Univ. Press; 1991. 295 p.
54. Koves TR, Noland RC, Bates AL, et al. Subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria play distinct roles in regulating skeletal muscle fatty acid metabolism. *Amer Physiol Cell Physiol.* 2005;288(1):1074-1082.

55. Lemasters JJ, Qian T, Bradham CA, et al. Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of necrotic and apoptotic cell death. *J Bioenerg Biomembr.* 1999;8:305-319. doi: 10.1023/A:1005419617371.
56. Lessler MA. Adaptation of Polarographic Oxygen Sensors for Biochemical Assays. *Meth Biochem Anal.* 1980;28:175-199. doi: 10.1002/9780470110485.ch4.
57. Levy D, Garrison RJ. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med.* 1990;32:1561-1566. doi: 10.1056/NEJM199005313222203.
58. Lindblad LE, Ekenvall L. Alpha 2-adrenoceptor inhibition in patients with vibration whitefinger. *Kurume Med J.* 1990;37:95-99. doi: 10.2739/kurumemedj.37.SUPPLEMENT\_S95.
59. Lukyanova LD, Hargens A, Takeda N, Singal PK. Novel approaches to the understanding of molecular mechanisms of adaptation. *Adaptation Biology and Medicine.* Narosa Publishing House New Dehli, India; 2004;4:11-12.
60. Lukyanova LD, Dubchenko AM, Tsybina TA, et al. Mitochondria signaling in adaptation to hypoxia. New Dehli, India: Narosa Publ. House; 2008;5:245-260.
61. Lojda Z, Gossrau R, Schiebler T. *Enzyme Histochemistry: A Laboratory Manual.* Heidelberg: Springer-Verlag; 1979. 270 p.
62. MacDonald MJ, Fahien LA, Brown LJ, et al. Perspective: emerging evidence for signaling roles of mitochondrial anaplerotic products in insulin secretion. *Amer J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288:1-15. doi: 10.1152/ajpendo.00218.2004.
63. Maevsky EI, Grishina EV, Rosenfeld FS, et al. Substrate exchange in hypoxic animal cells. Abstract Workshop on intercellular communication. Pushchino; 1994:65.
64. Maevsky EI, Grishina EV. Preservation of animal mitochondria under hypoxia by means of anaerobic redox substrate transformations. *Hypoxia Medical J.* 1996;2:43-44.
65. Masao Kakoki. Amino acids as modulators of endothelium-derived nitric oxide. *Amer G Physiol Renal.* 2006;291:297-304. doi: 10.1152/ajprenal.00417.2005.
66. Matoba T. Pathophysiology and clinical picture of hand-arm vibration syndrome in Japanese workers. *Nagoya J Med Sci.* 1994;57:19-26.
67. Matoba T, Chiba M. Effects of diltiazem on occupational Raynaud's syndrome (vibration disease). *Angiology.* 1985; 36(12):850-856. doi: 10.1177/000331978503601203.
68. Matoba T, Ishitake T. Cardiovascular reflexes during vibration stress. *Kurume Med J.* 1990;37:61-71. doi: 10.2739/kurumemedj.37.SUPPLEMENT\_S61.
69. Matsumoto Y, Griffin MJ. Vibration injury damages arterial endothelial cells. *Muscle Nerve.* 2002;25(4):527-534. doi: 10.1002/mus.10058.
70. Matsumoto Y, Maeda S, Oji Y. Influence of frequency thresholds for magnitude of vertical sinusoidal whole-body vibration. *Ind Health.* 2002;40(4):313-319. doi: 10.2486/indhealth.40.313.
71. Nattel S, Li D. Ionic remodeling in the heart: pathophysiological significance and new therapeutic opportunities for atrial fibrillation. *Circ Res.* 2000;87(6):440-447.
72. Никольс Д. Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию. – М.: Мир, 1985. – 190 с. [Nikols D. Bioenergetics. Introduction into chemiosmotic theory. Moscow: Mir; 1985. 190 p. (In Russ).]
73. Olsen N. Hyperreactivity of the central sympathetic nervous system in vibratio – induced white finger. *Kurume Med J.* 1990;37:109-116. doi: 10.2739/kurumemedj.37.SUPPLEMENT\_S109.
74. Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы // Кардиологический вестник. – 2007. – Т. 2. – № 2. – С. 5–15. [Parfenova EV, Tkachuk VA. Therapeutic angiogenesis: advances, problems, perspectives. *Kardiologicheskii vestnik.* 2007;2(2):5-15. (In Russ).]
75. Pepe S. Mitochondrial function in ischemia and reperfusion of the ageing heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2000; 27(9):745-750. doi: 10.1046/j.1440-1681.2000.03326.x.
76. Peprorska B, Szeszeia-Dabrowska N. Occupational diseases in Poland, 2001. *Int J Occup Med Environ Health.* 2002;15(4):337-34.
77. Perremans S. Influence of vertical vibration on heart rate of pigs. *J Anim Su.* 1998;76(2):416-420.
78. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, et al. Mitochondrion dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science.* 2003;300(9):1140-1142. doi: 10.1126/science.1082889.
79. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation.* 1990;81:1161-1172. doi: 10.1161/01.CIR.81.4.1161.
80. Потеряева Е.Л., Амирнова Е.Л., Никифорова Н.Г. Прогнозирование формирования и течения вибрационной болезни на основе изучения генно-метаболических факторов // Медицина труда и пром. экология. – 2015. – № 6. – С. 19–23. [Poteryaeva EL, Amirnova EL, Nikiforova NG. Forecasting the formation and course of vibration disease on basis of genetic metabolic markers study. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya.* 2015;6:19-23. (In Russ).]
81. Sastre J, Pallardo F, De la Asuncion, Vina J. Mitochondria, oxidative stress and aging. *Free Radical Res.* 2000;32(3):189-198. doi: 10.1080/1071576000300201.
82. Saxton JM. A review of current literature on physiological tests and soft tissue biomarkers applicable to work-related upper limb disorders. *Occup Med (Lond.).* 2000;50(2):121-130.
83. Schmidt R. Hepatic organ protection : from basic science to clinical practice. *World J Gastroenterol.* 2010;16(48):6044-6045. doi: 10.3748/wjg.v16.i48.6044.
84. Semenza GL. Expression of hypoxia-inducible factor 1: mechanisms and consequences. *Biochem Pharmacol.* 2000;59:47-53. doi: 10.1016/S0006-2952(99)00292-0.
85. Shishido T A, Sugimachi M, Kawaguchi O. A new method to measure regional myocardial time – varying elastance using minute vibration. *Amer J Physiol.* 1998;274:1404-1415.
86. Шпагина Л.А., Лосева М.И., Сухаревская Т.М. Морфофункциональные изменения эритроцитов при вибрационной болезни // Гигиена труда и проф. заболевания. – 1990. – № 4. – С. 30-32. [Shpagina LA, Loseva MI, Sukharevskaya TM. Morphofunctional changes



- of erythrocytes in vibration disease. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 1990;4:30-32. (In Russ).]
87. Smirnova EL, Nikiforova NG. Connective tissue metabolic features in patients with pneumatic hammer disease in the post-contact period. *Health Care of the Russian Federation*. 2011;5:6-7.
  88. Stroka DM, Burkhardt T, Desballerts I. HIF-1 is expressed in normoxia tissue and displays an organ – specific regulation under systemic hypoxia. *FASEB J*. 2001;15:2445-2453.
  89. Surgue M, Tatton W. Mitochondrial membrane potential in ageing cells. *Biol Signals Recept*. 2001;10(3-4):176-188.
  90. Szabo I, Zoratti M. The mitochondrial megachannel is the permeability transition pore. *J Bioenerg Biomemb*. 1992;24:111-117. doi: 10.1007/BF00769537.
  91. Tjandrawinata RR, Vincent VL, Hughes-Fulford M. Vibration force alters mRNA expression in osteoblasts. *FASEB J*. 1997;11(5):493-497.
  92. Vanden HTL, Shao Z, Li C, Shumacker PT, Becker LB. Mitochondrial electron transport can become a significant source of oxidative injury in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiology*. 1997;29(9):2441-2450. doi: 10.1006/jmcc.1997.0481.
  93. Virokannas H. Cardiovascular reflexes in workers exposed to hand-arm vibration. *Kurume Med J*. 1990;37:100-107. doi: 10.2739/kurumemedj.37.SUPPLEMENT\_S101.
  94. Воробьева В.В., Шабанов П.Д. Вибрационная модель гипоксического типа клеточного метаболизма, оцененная на кардиомиоцитах кролика // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2009. – Т. 147. – № 6. – С. 712–715. [Vorobieva VV, Shabanov PD. Vibration model for hypoxic type of cell metabolism evaluated on rabbit cardiomyocytes. *Byulleten eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 2009;147(6):712-715. (In Russ).]
  95. Воробьева В.В., Шабанов П.Д. Экзогенная янтарная кислота уменьшает вибрационно-опосредованные нарушения энергетического обмена в кардиомиоцитах кролика // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2009. – Т. 95. – № 8. – С. 857–864. [Vorobieva VV, Shabanov PD. Exogenous succinate reduces vibration-induced disorders of energy metabolism in rabbit cardiomyocytes. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2009;95(8):857-864. (In Russ).]
  96. Воробьева В.В., Шабанов П.Д. Биоэнергетические феномены при стрессирующем воздействии локальной вибрации и защитном действии янтарной кислоты // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезвыч. ситуациях. – 2010. – № 4. – Ч. 1. – С. 87–92. [Vorobieva VV, Shabanov PD. The bioenergetic phenomena in stress exposure to local vibration and defensive action of succinate. *Mediko-biologicheskie i sotsialno-psychologicheskiye problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh*. 2010;4/1:87-92. (In Russ).]
  97. Воробьева В.В., Шабанов П.Д. Фармакология вибрационно-опосредованных нарушений энергетического обмена в миокарде // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2011. – Т. 9. – № 1. – С. 3–44. [Vorobieva VV, Shabanov PD. Pharmacology of vibration-mediated disorders of energy metabolism in myocardium. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii*. 2011;9(1):3-43. (In Russ).]
  98. Воробьева В.В., Хоробрых В.Г., Шабанов П.Д. Влияние общей вибрации на функции дыхательной цепи паренхиматозных органов кроликов в эксперименте // Обз. по клин. фармакол. и лекарств. терапии. – 2012. – Т. 10. – № 4. – С. 16–29. [Vorobieva VV, Khorobrykh VG, Shabanov PD. Effect of general vibration on functions of breath chain in rabbit parenchymatic organs. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii*. 2012;10(4):16-29. (In Russ).]
  99. Ward D. Restoring mitochondrial function and bio-energetics. *Vit Res News*. 2005;19(5):2-6.
  100. Weihai F, Frederick J-P, Miro S. Citric acid cycle intermediates as ligand for orphan G-protein coupled receptors. *Nature*. 2004; 429:188-193. doi: 10.1038/nature02488
  101. Winder WW. Energy-sensing and signaling by AMP-activated protein kinase in skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2001; 91:1017-1028.
  102. Wittenberger T, Schaller HC, Hellebrant S. An expressed sequence tag (EST) data mining strategy succeeding in the discovery of new G-protein coupled receptors. *J Mol Biol*. 2001;307:799-813. doi: 10.1006/jmbi.2001.4520.
  103. Wittenberger T. GPR99, a new G-protein coupled receptor with homology to a new subgroup of nucleotide receptors. *BMC Genomics*. 2002;3:17-22. doi: 10.1186/1471-2164-3-17.

◆ Информация об авторах

Виктория Владимировна Воробьева — д-р мед. наук, заведующая кафедрой фармакологии. ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. E-mail: v.v.vorobeve@mail.ru.

Петр Дмитриевич Шабанов — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии. ФГБОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Viktoriya V. Vorobieva — Doctor of Med. Sci. (Pharmacology), head of department of pharmacology, North-western State Medical University named after I.I. Mechnikov. E-mail: v.v.vorobeve@mail.ru.

Petr D. Shabanov — Professor, Head, Dept. of Pharmacology. S.M. Kirov Military Medical Academy. E-mail: pdshabanov@mail.ru.