

Особенности энергетического метаболизма сердца,  
головного и спинного мозга.

Новые методы профилактики и лечения болезней,  
связанных с нарушениями энергетики и  
окислительным стрессом

Панов Александр Васильевич, д.б.н.

Научный Сотрудник Лаборатории Маркеров Мозга,

WellStar College of Health & Human Services,

Kennesaw State University,

Kennesaw, Georgia 30144, USA

# Введение

За последние 15 лет изучение митохондрий и энергетического обмена приобрело практическое значение. Это было связано с открытием нового класса болезней, вызываемых мутациями и делециями митохондриальной ДНК (мтДНК) (1), и осознанием того факта, что практически все заболевания вызваны или сопровождаются нарушениями энергетического обмена. Особенно большую роль митохондриальные дисфункции играют в патогенезе нейродегенеративных болезней, таких как болезни Альцгеймера, Паркинсона, бокового амиотрофического склероза, множественного склероза мозга (2). Заболевания сердечно-сосудистой системы, гипертоническая болезнь, диабет и многие другие «классические» болезни оказались напрямую связаны с митохондриальными дисфункциями и повышенным образованием радикалов кислорода, коллективно обозначаемыми, как «Окислительный стресс». Все это привело к бурному росту публикаций об участии митохондрий в самых разных патологиях.

К сожалению, во многих исследованиях митохондрий исследователи применяют устаревшую методологию, которая не соответствует новым научным задачам и достижениями физиологических и биологических наук. Имея за плечами более чем 40-летний опыт изучения митохондрий из разных органов и тканей и патологии этих органов, мы разработали новые методологические подходы, которые учитывают специфику энергетического обмена органа. Это позволило нам сделать ряд интересных открытий в патогенезе ряда заболеваний и наметить новые практические подходы к лечению и профилактике заболеваний, связанных с нарушениями энергетического обмена и окислительным стрессом.

## Практическая и Социальная значимость проекта

В сравнении с началом XX столетия, в начале XXI столетия значительно увеличилась продолжительность жизни людей. В результате, широкое распространение получили заболевания, которые редко встречались сто лет назад. Основная медицинская и социальная проблема с увеличением продолжительности жизни связана с широким распространением нейродегенеративных болезней, таких, как болезни Альцгеймера, Паркинсона, бокового амиотрофического склероза, множественного склероза мозга. Огромные людские и финансовые ресурсы затрачиваются на лечение и уход за больными.

Широкое распространение автомобилей и возросшая активность населения, особенно молодежи, привела к росту травм спинного мозга. В США, например каждый год травму спинного мозга получают более 10000 людей, в основном (87%) молодых мужчин. Примерно половина из них становятся полными инвалидами до конца жизни, которая обычно не превышает 10-15 лет после травмы. В большинстве случаев исход травмы решается в первые часы после травмы. Гибель нейронов спинного мозга происходит не из-за непосредственной травмы, а в результате вторичных патологических реакций на травму. В нашей недавней публикации (8) мы показали возможные причины более высокой ранимости спинного мозга и в настоящее время работаем над методами комплексной защиты органа после травмы с целью повысить вероятность сохранения его функций. Если бы нам удалось хотя бы на несколько процентов повысить вероятность сохранения функций спинного мозга, то это имело бы огромное социальное значение и сократило финансовые расходы на лечение и уход за больными.

## Цель проекта

Поскольку в настоящее время происходит переоценка роли энергетического обмена в патогенезе большинства заболеваний, то и поиск новых методов лечения должен быть более целенаправленным в отношении защиты митохондрий и борьбы с окислительным стрессом. Работы В.П. Скулачева и его коллег являются примером такого направления.

**Цель предлагаемого проекта** состоит в практическом применении результатов наших многолетних исследований для лечения патологических состояний, в которых митохондриальные дисфункции и окислительный стресс играют большую роль, нередко решающую роль, как в случае травмы позвоночника.

## Задачи исследования

Основные задачи, которые мы ставим перед собой в представленном проекте направлены на практическое применение результатов наших предыдущих экспериментальных исследований, которые частично были опубликованы в работах (3-10)

1. Применение малата и разработка новых ингибиторов сукцинат дегидрогеназы в качестве пищевых добавок для снижения дегенеративных изменений в ткани мозга у животных с генетически ускоренным старением, вызванным увеличенным производством радикалов кислорода;
2. Разработка смеси лекарств для предотвращения некроза ткани спинного мозга при травмах позвоночника и экспериментальной модели бокового амиотрофического склероза;
3. Разработка новых и использование существующих наноносителей для доставки или удержания лекарств в целевом органе – сердце, головной и/или спинной мозг с целью защиты митохондрий и снижения окислительного стресса.

# Немного терминологии

**Митохондрии** – клеточные органеллы, которые при окисления водорода, получаемого при катаболизме углеводов, жиров и белков, используют часть освобождаемой энергии для производства АТФ – основного источника энергии для нужд клетки и органа в целом.

При изучении митохондрий и энергетического обмена необходимо различать основные метаболические состояния митохондрий, которые соответствуют разным физиологическим или патологическим состояниям клетки (органа):

**Метаболическое состояние 4 (State 4)** – митохондрии окисляют субстраты, но накопленная энергия в виде разности электрического потенциала и рН не расходуется на производство АТФ и транспорт ионов. МС-4 соответствует покою клетки (органа), хотя для некоторых органов (почки, печень, сердце) состояние «покоя» является относительным. В МС-4 митохондрии могут производить большое количество свободных радикалов кислорода (СРК)

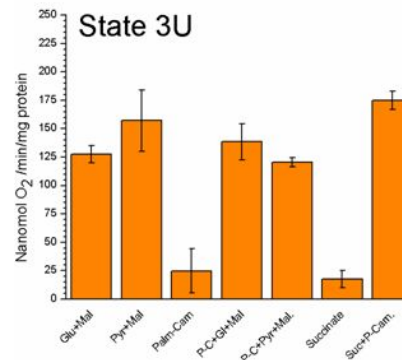
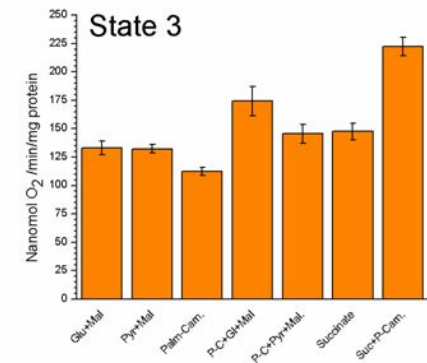
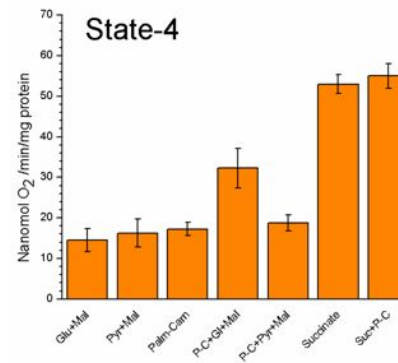
**Метаболическое состояние 3 (State 3)** – в этом состоянии митохондрии производят АТФ – окислительное фосфорилирование. Расход энергии на синтез АТФ приводит к стимуляции потребления кислорода митохондриями и некоторому падению мембранного потенциала. В МС-3 производство СРК минимально.

**Разобщенное (uncoupled) дыхание (State 3U).** При повреждении внутренней мембраны митохондрий или в присутствии носителей водорода или ионов, трансмембранный потенциал митохондрий резко снижается и дыхание может стимулироваться без производства АТФ – разобщенное дыхание. Нередко в State

# Окисление митохондриями сердца различных субстратов в основных метаболических состояниях

Физиологи давно знают, что сердце получает энергию за счет «сжигания жиров в пламени углеводов». Однако митохондриологи продолжают использовать классические субстраты: сукцинат + ротенон, глутамат, пируват, или пальмитоил карнитин (ПК). Мы впервые показали, что при одновременном окислении митохондриями сердца смеси субстратов цикла Кребса и пальмитоилкарнитина (ПК) резко усиливается дыхание во всех метаболических состояниях в сравнении с окислением одного ПК или сукцината (без ротенона).

Рисунок, представленный справа, показывает, что при использовании физиологической смеси субстратов липидного и углеводного обмена происходит стимуляция и стабилизация окислительного фосфорилирования.



## Обозначения субстратов для дыхания митохондрий

**G + M** = Глутамат + малат

**P + M** = Пируват + малат

**Palm. Carn.** = Пальмитоил карнитин

**G + M + P-C** = Глутамат + малат + пальмитоил карнитин

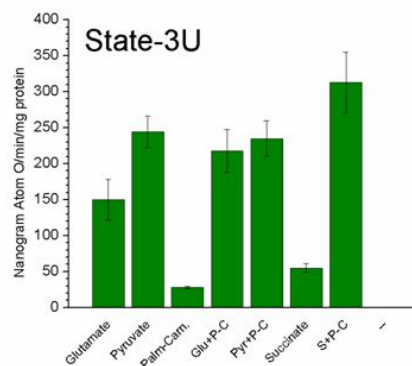
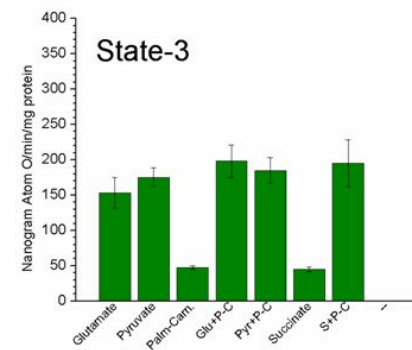
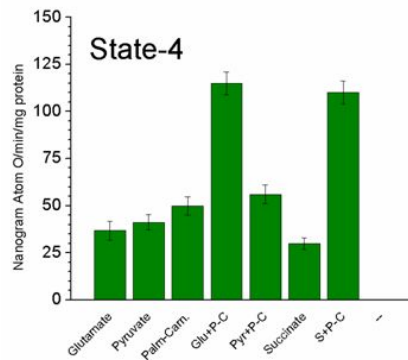
**P + M + P-C** = Пируват + малат + пальмитоил карнитин

**Succinate** = Сукцинат

**S + P-C** = Сукцинат + пальмитоил карнитин

# Окисление митохондриями мозга различных субстратов в основных метаболических состояниях

Считается, что митохондрии мозга не способны окислять жирные кислоты (пальмитоилкарнитин). Действительно, рисунок справа показывает, что при окислении ПК не происходит стимуляции дыхания при окислительном фосфорилировании (State 3) или разобщении дыхания (State 3U). Однако дыхание в State 4 достаточно высокое. Это связано с тем, что в митохондриях мозга снижена активность конечных этапов бета-окисления жиров, но активность ацил-КоА дегидрогеназы сохранена. В митохондриях мозга активность СДГ также заторможена. Однако, если митохондрии мозга окисляют смесь ПК и субстратов цикла Кребса, то скорости дыхания во всех метаболических состояниях становятся высокими, особенно в State 4. Это важно, поскольку именно в этом метаболическом состоянии производятся свободные радикалы кислорода за счет активации обратного переноса электронов по дыхательной цепи митохондрий, что показано на следующем рисунке.



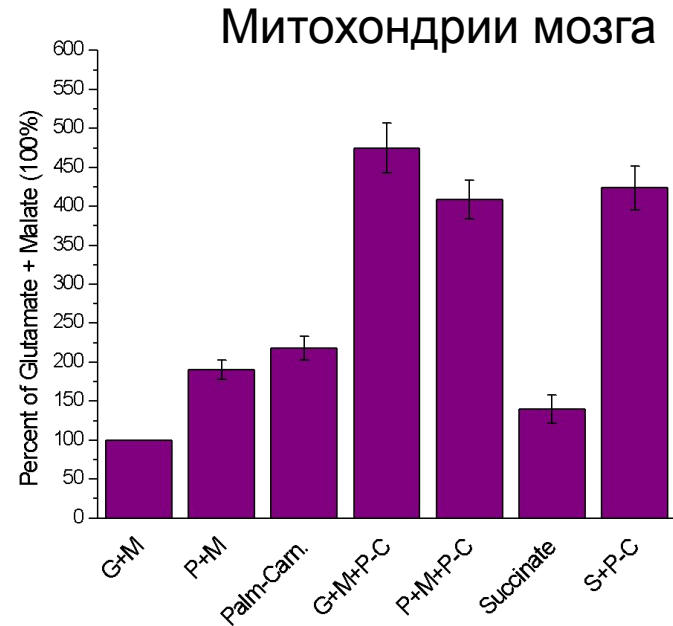
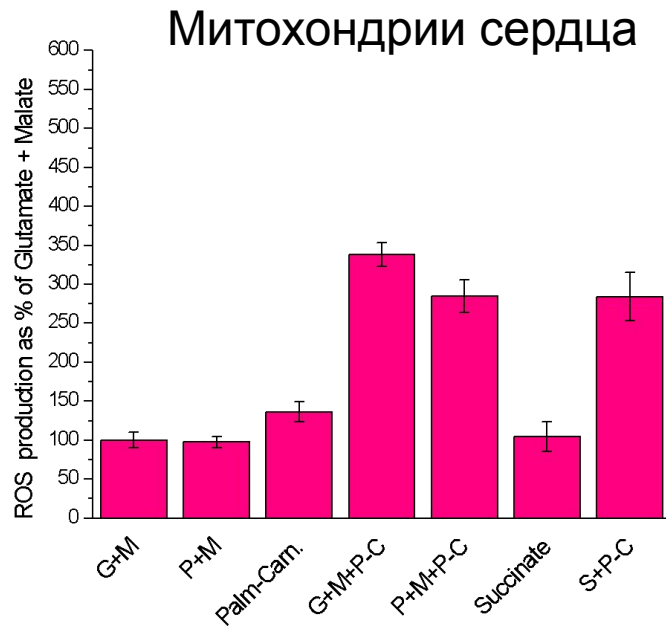
## Обозначения субстратов для дыхания митохондрий

- G + M** = Глутамат + малат
- P + M** = Пируват + малат
- Palm. Carn.** = Пальмитоил карнитин
- G + M + P-C** = Глутамат + малат + пальмитоил карнитин
- P + M + P-C** = Пируват + малат + пальмитоил карнитин
- Succinate** = Сукцинат
- S + P-C** = Сукцинат + пальмитоил карнитин



# Производство супероксидного радикала (СОР) митохондриями сердца и мозга крыс при окислении различных субстратов и их смесей.

Продукция СОР при окислении глутамат + малат принята за 100%.



На рисунках показано, что при окислении митохондриями сердца и мозга смесей субстратов, которые содержат пальмитоилкарнитин, может происходить резкая стимуляция производства супероксидного радикала, из которого образуются другие токсичные формы радикалов кислорода. В неактивированных нейронах митохондрии могут находиться в состоянии покоя, а при недостаточно активной работе сердца очень мощная система дыхания может поддерживать высокий мембранный потенциал митохондрий. Таким образом, при сниженной активности мозга и сердца окисление липидов может приводить к усилению окислительного стресса, и заболеваниям (болезнь Альцгеймера, сердечная патология).

До сих пор усиление липидного обмена рассматривается как фактор риска для сердечно-сосудистой патологии, в основном за счет отложения холестерина в стенках кровеносных сосудов. Наши данные, представленные выше, свидетельствуют о том, что усиление метаболизма липидов может приводить к усилению окислительного повреждения органа. Что касается мозга и спинного мозга, недавние исследования показали, что хотя митохондрии нейронов и не используют жирные кислоты в качестве источника энергии, в целом мозге до 20% энергии, расходуемой органом, обеспечивается окислением жирных кислот митохондриями астроглии (12). Поэтому в тканях мозга и спинного мозга содержатся значительные количества карнитина и ацил-карнитинов. Приведенные выше наши данные показывают, что при определенных ситуациях ацил-карнитины могут приводить к повышению окислительного стресса в ЦНС.

Приведенные данные открывают новые подходы к пониманию заболеваний сердца и мозга при диабете, метаболических синдромах при ожирении или менопаузе у женщин.

В недавно опубликованных статьях (8, 9) мы показали, что спинной мозг в сравнении с головным мозгом имеет более высокую вероятность гибели нейронов при ряде патологий, таких, как боковой амиотрофический склероз или травма позвоночника. При травме позвоночника в большинстве случаев гибель нейронов чаще всего вызвана не самой травмой, а вторично за счет развития воспаления, отека, гипоксии, освобождения ионов кальция. Судьба нейронов решается в течение первых 12-24 часов после травмы. Поскольку не существует методов стабилизации вторичных посттравматических патологических процессов, то и прогресс в лечении травм позвоночника незначительный. Данные литературы указывают, что гибель нейронов спинного мозга идет скорее по пути некроза и вызвана гибелью митохондрий. В нашей лаборатории и совместно с коллегами из России мы разрабатываем комплексный метод стабилизации митохондрий и ткани спинного мозга, с целью увеличения вероятности благоприятного исхода травм позвоночника.

## Предполагаемые Российские учреждения для совместного выполнения проекта

Учреждение Российской Академии медицинских наук Научно-исследовательский Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАМН (НИИМББ СО РАМН)

Учреждение Российской Академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской Академии наук (ИЦИГ СО РАН)

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный университет» (НГУ)

С указанными учреждениями мы успешно сотрудничали в 2009 – 2010 годах по проекту, выполненному в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

**Государственный контракт № 02.740.11.5039 от 20 июля 2009 г.**

**Тема:** «Метаболическая регуляция генерации активных форм кислорода в митохондриях мозга, сердца и печени и защита от окислительного стресса».

Предлагаемый новый проект является логическим продолжением проведенных совместных исследований и позволил бы начать работу над практическим применением полученных разработок без периода предварительной «притирки».

# Список литературы

1. Wallace, D.C. Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91 (1994) 8739-8746
2. Beal, M.F. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Biochim. Biophys. Acta*, 1366 (1998) 211-223
3. Betarbet, R., Sherer, T.B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V., Greenamyre, J.T. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, 3 (2000) 12, 1301-1306
4. Panov, A.V., C-A. Gutekunst, B. R. Leavitt, M. R. Hayden, Burke, J.R., Strittmatter, W.J., J.T. Greenamyre. (2002) Early mitochondrial calcium defects in Huntington's Disease are a direct effect of polyglutamines. *Nature Neuroscience*, 5, 1-6
5. Panov, A., S. Dikalov, N. Shalbuyeva, G. Taylor, T. Sherer and J. T. Greenamyre (2005). Rotenone model of Parkinson's disease: Multiple brain mitochondria dysfunctions after short-term systemic rotenone intoxication. *J Biol. Chem.* 280 (51), 42026-4203
6. Panov, A., S. Dikalov, N. Shalbuyeva, R. Hemendinger, J.T. Greenamyre, and J. Rosenfeld. (2007) Species and tissue specific relationships between mitochondrial permeability transition and generation of ROS in brain and liver mitochondria of rats and mice. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 292, C708-C718
7. Panov, A., Andreeva, L., J. T. Greenamyre. (2004) Quantitative evaluation of the effects of mitochondrial permeability transition pore modifiers on accumulation of calcium phosphate: comparison of rat liver and brain mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 424, 44-52
8. Panov, A., Kubalik, N., Zinchenko, N., Ridings, D.M., Radoff, D.A., Hemendinger, R., Brooks, B.R., Bonkovsky, H.L. (2011) Metabolic and functional differences between brain and spinal cord mitochondria underlie different predisposition for pathology. *Am. J. Physiology. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 300, 4, R844-R854
9. Alexander Panov, Natalia Kubalik, Natalia Zinchenko, Richelle Hemendinger, Sergey Dikalov, Herbert L. Bonkovsky. (2011) Respiratory activities and reactive oxygen species generation in brain and spinal cord mitochondria of transgenic rats with mutant G93A Cu/Zn superoxide dismutase gene. Accepted for publication in *Neurobiology of Disease*.
10. Kolosova, N.G., Akulov, A.E., Stefanova, N.A., Moshkin, M.P., Savelov, A.A., Kptyug, I.V., Panov, A.V., Vavilin, V.A. (2011) Effect of malate on development of rotenone-induced brain changes in Wistar and OXYS rats: An MRI study, *Doklady Biol. Sci.* 437, 72-75.
11. Seshadri, G., J. C. Sy, M. Brown, S. Dikalov, S. C. Yang, N. Murthy and M. E. Davis. (2010) The delivery of superoxide dismutase encapsulated in polyketal microparticles to rat myocardium and protection from myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biomaterials* 31(6): 1372-1379
12. Ebert, D., Haller, R.G., Walton, M.E. (2003) Energy contribution of octanoate to intact brain metabolism measured by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Neurosci.* 23 (13), 5928-5935