

## ИШЕМИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ

В. В. Лихванцев<sup>1</sup>, В. В. Мороз<sup>1</sup>, О. А. Гребенчиков<sup>1</sup>, Ю. И. Гороховатский<sup>2</sup>,  
Ю. В. Заржецкий<sup>1</sup>, С. С. Тимошин<sup>3</sup>, Д. И. Левигов<sup>4</sup>, В. Л. Шайбакова<sup>4</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Москва

<sup>2</sup> Российский национальный медико-хирургический центр им. Н. И. Пирогова, Москва

<sup>3</sup> Медицинский центр Мэра и Правительства Москвы, КБ № 2

<sup>4</sup> ГКБ им. С. П. Боткина, Москва

### Ischemic and Pharmacological Preconditioning

V. V. Likhvantsev<sup>1</sup>, V. V. Moroz<sup>1</sup>, O. A. Grebenchikov<sup>1</sup>, Yu. I. Gorokhovatsky<sup>2</sup>,  
Yu. V. Zarzhetsky<sup>1</sup>, S. S. Timoshin<sup>3</sup>, D. I. Levikov<sup>4</sup>, V. L. Shaibakova<sup>4</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;

<sup>2</sup> N. I. Pirogov Surgery Research Center, Moscow;

<sup>3</sup> Clinical Hospital Two, Medical Center of Moscow Mayor and Government;

<sup>4</sup> S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow

Обзорная статья посвящена проблеме ишемического preconditioning — универсального физиологического механизма защиты клетки от гипоксии. «Preconditioning» — термин, используемый для описания феномена повышения толерантности клетки к воздействию повреждающего фактора в результате предварительного влияния на нее стрессорных стимулов. В статье описан феномен ишемического preconditioning, суммированы результаты исследования возможных механизмов реализации данного эффекта в органах и тканях. Обсуждается ключевая роль фермента гликогенсинтазы киназы 3 бета в регуляции митохондриальной поры и последней в защите клетки от гипоксии. Приведены данные экспериментальных исследований по тестированию различных препаратов в качестве фармакологических агентов иницирующих/ингибирующих preconditioning. Анализируются причины избирательной эффективности некоторых антигипоксантов и антиоксидантов с позиции теории ишемического preconditioning. Рассматриваются традиционные анестетики и анальгетики как потенциальные индукторы или ингибиторы обсуждаемого процесса. *Ключевые слова:* ишемическое preconditioning, гипоксия, анестетики, цитопротекция.

The review article deals with the problem of ischemic preconditioning, the universal physiological mechanism of cell protection from hypoxia. Preconditioning is the term used to describe a phenomenon of the enhanced tolerance of a cell to a damaging factor due to its preliminary effects of stressful stimuli. The article describes the phenomenon of ischemic preconditioning and summarizes the results of a study of the possible mechanisms of this effect in organs and tissues. It discusses the key role of the enzyme glycogen synthase 3 $\beta$  in the regulation of the mitochondrial pore and that of the latter in the protection of a cell from hypoxia. Experimental data are given on the testing of different drugs as pharmacological agents that initiate/inhibit preconditioning. Reasons for the selective efficacy of some antihypoxants and antioxidants are analyzed in the context of the ischemic preconditioning theory. Conventional anesthetics and analgesics as potential inducers or inhibitors of the process in question are discussed. *Key words:* ischemic preconditioning, hypoxia, anesthetics, cytoprotection.

Анестезиология, как и любая другая медицинская дисциплина, становится способной на научный прорыв только тогда, когда рекомендуемые методы лечения разрабатываются за счет открытия новых механизмов в физиологии, биологии или фармакологии. Кажется, очередной «момент истины» для анестезиологии наступил с открытием ишемического preconditioning — универсального физиологического механизма защиты клетки от гипоксии. Данная проблема в равной степени волнует умы экспериментаторов и клиницистов. Первые не без успеха исследуют механизмы защиты клетки от гипоксии, вторые решают

практические вопросы органопротекции во время длительных и травматичных операций, сопровождающихся эпизодами локальной (или тотальной) ишемии. И у тех и у других достаточно своих нерешенных проблем, но, ко всему прочему, иногда создается впечатление, что каждый идет своей дорогой, забыв, что только сотрудничество может принести желанный успех. Происходит беседа «глухого со слепым»: анестезиологи «наощупь» ищут препараты и методы, повышающие устойчивость организма к гипоксии; теоретики же как-будто и не заинтересованы в практической реализации своих идей. Клиницисты совершают досадные просчеты, тестируют все новые антигипоксанты и антиоксиданты, удивляясь непостоянству и неоднозначности полученных результатов, в то время как биохимики и фармакологи уже готовы объяснить данный феномен. С другой стороны, некоторые вещества, доказавшие свою эффективность в эксперименте, никак не могут найти дорогу в клинику.

#### Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Лихванцев Валерий Владимирович  
E-mail: lik0704@gmail.com

Настоящий обзор, хочется надеяться, позволит сблизить позиции тех и других, перекинув «мостик» между известными механизмами защиты тканей от гипоксии и возможностью их реализации в клинике. Вместе с тем, проблема представляется настолько же многообещающей, насколько и малоизученной.

## Ишемическое прекондиционирование: определение и описание феномена

Одним из способов повышения резистентности органов к дефициту кислорода является физиологическое воздействие на систему регуляции клеточного метаболизма путем периодического создания условий умеренного дефицита кислорода. В эксперименте давно доказан «тренирующий» эффект периодической гипоксии, адаптирующей организм животного к условиям недостатка кислорода [1]. В механизме этой адаптации важную роль играют как реакции на уровне организма (гипервентиляция, активизация деятельности сердца, усиление эритропоэза и др.), так и модификация клеточного метаболизма (активизация гликолиза, повышение способности утилизировать кислород при его низком содержании, увеличение мощности антиоксидантной системы клеточной защиты и др.) [2]. В результате, гипоксическая тренировка приводит к лучшей переносимости клетками дефицита кислорода в ходе ишемии и в начальных периодах реперфузии [3].

«Преко́ндицио́нирование» — термин, используемый для описания феномена повышения толерантности клетки к воздействию повреждающего фактора в результате предварительного влияния на нее стрессорных стимулов [4].

Изначально эффект преко́ндицио́нирования был описан для миокарда, поэтому основная масса исследований его механизмов проведена на кардиомиоцитах. В настоящее время доказано, что короткие периоды ишемии защищают сердце от повреждения в период последующей длительной гипоксии. Этот феномен и был назван «ишемическим преко́ндицио́нированием» (ИПК) [4]. Четыре коротких эпизода окклюзии коронарной артерии, перемежающиеся пятиминутными периодами реперфузии перед длительной (40 мин) окклюзией на 70–80% уменьшали зону инфаркта. Значительный защитный эффект ИПК был впоследствии продемонстрирован на многих вариантах экспериментальных моделей. ИПК является эффективным защитным механизмом для сердец всех млекопитающих, протестированных к настоящему времени [5].

Преко́ндицио́нирование может быть достигнуто короткими периодами ишемии (3–5 минут), с последующей 5-минутной реперфузией. Чтобы вызвать эффект преко́ндицио́нирования, по-видимому, достаточно одного короткого периода ишемии [6], хотя некоторые авторы рекомендуют использовать несколько повторяющихся эпизодов [7, 8]. Таким образом, ИПК сердца можно описать как фазу памяти, в течение которой у миокарда сохраняется устойчивость к гипоксии, предотвращающая гибель кардиомиоцитов и развитие инфаркта.

Защитный эффект короткого эпизода ишемии проявляется через 5 мин реперфузии и сохраняется в течение 1–2 ч после тренировочного ишемического стимула. Если период времени между короткой ишемией, стимулирующей феномен ИПК, и эпизодом продолжительной ишемии увеличивается до 2–3 ч, эффект ишемического преко́ндицио́нирования исчезает [4, 7]. Интересно, что если увеличить время между тренировкой и началом продолжительной ишемии до 24 ч, наблюдается возвращение феномена защиты, выражающегося в уменьшении зоны инфаркта, но с более низкой эффективностью, нежели сразу после проведения ишемического преко́ндицио́нирования [9, 10]. Этот феномен позднего ИПК назвали «вторым окном» антиишемической защиты. Соответственно, раннюю фазу защиты считают «классическим» или «ранним ПК».

Чтобы запустить защитные сигнальные пути ПК, требуется использовать минимальное, пороговое время ишемии (около 5 мин) до начала реперфузии.

При сохранении остаточного кровотока в миокарде, эффективность ПК снижается, вплоть до исчезновения этого фено-

мена. Еще в 1986 г. Murray с соавт. описали, что величина зоны вторичного некроза в зоне инфаркта уменьшается при увеличении коллатерального кровотока у собак, не подвергавшихся ишемическому ПК, и наоборот увеличивалась с увеличением коллатерального кровотока при использовании ИПК. Иными словами, при окклюзии коронарной артерии для ишемической тренировки, хороший коллатеральный кровоток скорее препятствует развитию феномена ПК, приводя к снижению переносимости последующей продленной ишемии.

Универсален ли феномен ишемического преко́ндицио́нирования?

Возможность ишемического преко́ндицио́нирования печени, почек и других жизненно важных органов исследована значительно меньше, чем ПК миокарда. Однако, по-видимому, данный механизм в достаточной степени универсален.

**Почки.** Проксимальные каналы почек, выделенные через 24 часа после эпизода ишемии, были устойчивы против действия гипоксии, активных форм кислорода и ионофоров кальция [11, 2]. В недавнем исследовании Lee H. T., Emala C. W. 2000 г. [13] было показано, что четыре последовательных цикла ишемии по 8 мин (но не 4 или 6 минут), разделенных пятью минутами реперфузии, обеспечивают защиту против последующей сорокаминутной ишемии. Несмотря на большое количество доказательств пользы ПК почек в экспериментальных исследованиях, ее эффективность в клинике не доказана [14].

**Печень.** Исследования на моделях животных показывают значительный защитный эффект ишемического преко́ндицио́нирования печени, которое приводит к высокой выживаемости животных после длительных периодов ишемии данного органа [15]. Clavien и соавт. 2000 г. [16] впервые доказали в клинике, что ишемическое преко́ндицио́нирование может защитить функцию печени от ишемического повреждения во время ее резекции. Уровень трансаминаз в группе преко́ндицио́нирования был значительно ниже. Дальнейшие исследования показали, что ишемическое преко́ндицио́нирование печени значительно повышает интраоперационную гемодинамическую стабильность при операциях гепатэктомии [17].

**Кишечник.** Ишемическое преко́ндицио́нирование для кишечника впервые было описано Hotter и соавт. (1996) [18]. На модели ишемии-реперфузии кишечника крысы преко́ндицио́нирование снижало бактериальную транслокацию [19]. Ишемическое преко́ндицио́нирование кишечника перед геморрагическим шоком значительно снижало системный воспалительный ответ и дистантное повреждение других органов в эксперименте [20].

**Лёгкие.** Ишемия-реперфузия легких стала значительной клинической проблемой, особенно после широкого внедрения операций с ИК и трансплантации легких. Главным осложнением ишемии-реперфузии легких является дисфункция эндотелия легочных сосудов, манифестирующая в виде легочной гипертензии, повышения сосудистой проницаемости, некардиогенного отека легких, нарушения газообмена. Клинически это проявляется острым повреждением легких и ОРДС, которое, в свою очередь, чревато пролонгированной ИВЛ, развитием серьезных, в т.ч. гнойно-септических, осложнений и ростом летальности [21]. Ишемическое преко́ндицио́нирование, как было показано на экспериментальных моделях животных, эффективно предотвращает легочное повреждение [22]. Но, несмотря на обнадеживающие результаты в эксперименте, роль механизмов ишемического преко́ндицио́нирования в защите легких до сих пор не ясна.

**Мозг.** Установлен защитный эффект ишемического преко́ндицио́нирования на моделях фокальной и глобальной ишемии мозга у различных экспериментальных животных [23, 24]. Некоторые авторы сообщают, что транзиторные ишемические атаки перед ишемическим инсультом, в том же сосудистом бассейне, приводят к менее выраженным неврологическим нарушениям в восстановительном периоде после инсульта [25]. Работы в данном направлении до сих пор остаются единичными.

## Механизм ишемического прекондиционирования

Ранние исследования механизмов ИПК проводились группой исследователей под руководством Downey [26]. Сразу стала очевидной сложность этого процесса. В миокарде, который подвергается процедуре ишемического прекондиционирования, происходит ряд метаболических и физиологических изменений, включая снижение пула адениновых нуклеотидов (сумма АТФ + АДФ + АМФ), накопление внутриклеточной глюкозы, накопление креатинфосфата [27]. При втором эпизоде ишемии изменения существенно отличаются от реакции неподготовленного миокарда. Важно, что намного более медленно расходуется АТФ, медленнее нарастает и внутриклеточный ацидоз [28–30]. Активация анаэробного гликолиза, являющегося основным источником синтеза АТФ в условиях тяжелой ишемии, при одновременном снижении скорости истощения запасов высокоэнергетических фосфатов, объясняется снижением потребности в энергии тканей, подвергшихся ИПК [31]. Известно, что ишемия сопровождается снижением пула внутриклеточного АТФ, высоким уровнем лактата и ионов водорода. «Преко́ндициони́рованная» ткань дольше сохраняет АТФ, в ней замедляются процессы, приводящие к осмотической перегрузке и развитию внутриклеточного ацидоза [29].

Исследования, выполненные к настоящему времени, показывают, что ИПК представляет собой сложный каскад внутриклеточных событий, начинающийся с активации рецепторов ишемическим стимулом и последовательным усилением сигнала до влияния на конечный эффекторный элемент, вполне вероятно — АТФ-зависимый калиевый канал (КАТР).

Механизм ишемического прекондиционирования запускается через множество вторичных биохимических «посредников» (мессенджеров) из нескольких сигнальных биохимических путей. Многие рецепторы и внутриклеточные компоненты имеют отношение к ИПК, включая связанные с G-белком мембранные рецепторы (например, аденозин-А1 рецепторы, альфа-адренергические рецепторы, мускарин М2, и брадикинин В2) и внутриклеточные протеинкиназы (например, протеинкиназа С в виде ее эпсилон-изоформы), а также другие компоненты, включая аденозин, опиоиды, сигнализацию через АФК (активные формы кислорода). Детальные механизмы, лежащие в основе индукции как ранней, так и поздней фазы прекондиционирования, до конца не ясны и находятся в процессе изучения.

Murphy и соавт. (1990) показали, что внутривенное применение «ловушек» свободных радикалов (супероксиддисмутазы, каталазы) предотвращают и эффекты ИПК. Эти данные указывают на то, что свободные радикалы обладают не только повреждающим, но и, возможно, защитным эффектом (вероятно, зависит от концентрации в клетке) при реперфузии после ишемии миокарда. Было показано, что открытие калиевых каналов митохондрий диазоксидом (которое имеет защитный, антиишемический эффект) сопровождается увеличением продукции свободных радикалов в митохондриях [32].

КАТР каналы, открывающиеся в процессе ишемии, играют центральную роль в реализации защитных эффектов ИПК [33]. Эти каналы были идентифицированы как в сарколемме, так и в митохондриальных мембранах. Протекторный эффект ишемии может быть блокирован предварительной обработкой миокарда ингибиторами КАТР каналов, типа глибенкламида, 5-гидроксидеканоата [34, 35]. Первоначально, ответственными за ИПК считались КАТР каналы, расположенные в сарколемме. Позднее, стала очевидна важная роль и митохондриально-го КАТР канала в обсуждаемом процессе [36, 37]. КАТР каналы в митохондриях, как и в сарколемме, специфически открываются диазоксидом и блокируются 5-гидроксидеканоатом, однако, в отличие от последних, ингибирование в митохондриях происходит при значительно более низких концентрациях [37]. Исследования показали, что назначение диазоксидом с целью фармакологического прекондиционирования

сердца, уменьшает размер зоны инфаркта аналогично ИПК [37].

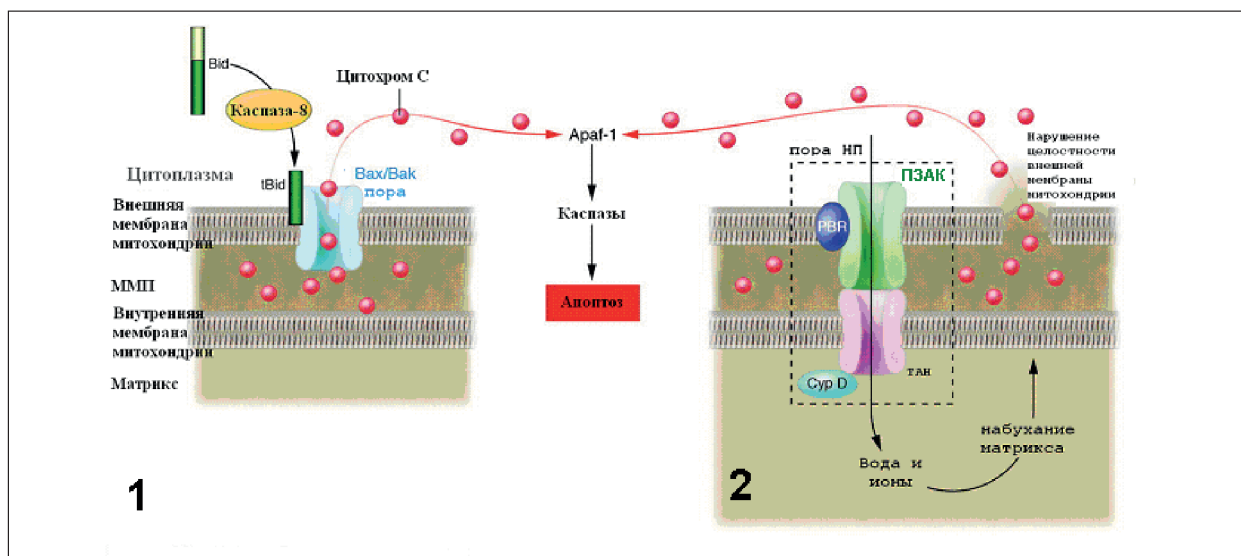
Второй вероятный участник защитного антиишемического каскада, задействованного в ПК — изоформа протеинкиназы С ( $\epsilon$ PKC). Именно этот фермент (но не общее количество протеинкиназы) пространственно перераспределяется в клетке в процессе ишемии [38–40]. Будучи активированной PKC фосфорилирует сериновые и треониновые группы белков фермента или структурного белка канала и, вероятно, таким образом, реализует эффекты ИПК. Механизмы данного феномена трудно изучать *in vivo*, потому что многие из потенциальных агонистов и ингибиторов нерастворимы в воде, а также потому, что ингибиторы часто не так специфичны, как хотелось бы [38]. Большинство исследований были выполнены *in vitro* на перфузируемых сердцах кроликов или крыс, когда подавление фосфорилирования ингибиторами блокирует полезный эффект ИПК [41, 42].

Кроме того, в процесс ИПК, по-видимому, вовлечены и некоторые киназы, производные от PKC, и киназы тирозина Src и Lck [43]. Ингибирование как PKC, так и тирозинкиназы, предотвращает эффект ишемического прекондиционирования в сердце свиньи, тогда как ингибирование только PKC не дает этого эффекта.

В недавней работе Juhaszova и соавт. (2004) [8] было показано, что большинство описанных сигнальных путей имеют конечным эффектом ингибирование активности киназы гликогенсинтетазы (GSK-3). Именно ингибирование GSK-3 уменьшает зону инфаркта и способствует постишемическому восстановлению функции органа. GSK-3 (сериин-треониновая киназа) является ключевым ферментом множества сигнальных путей. Она фосфорилирует различные ядерные и цитоплазматические белки. Существует 2 изоформы: GSK-3  $\alpha$  и  $\beta$  (51 и 47 кДа, соответственно); они имеют 98% гомологии в центральном каталитическом домене. Однако эти 2 изоформы могут проявлять разную активность по отношению к различным внутриклеточным субстратам, причем  $\beta$  изоформа характеризуется более высокой активностью нежели GSK-3 $\alpha$ . РНК интерференция показала, что защитные сигналы идут в основном через изоформу GSK-3 $\beta$ . В нестимулированных клетках активность GSK-3 $\beta$  достаточно высокая и снижается при обработке клеток митогенами. Инактивация GSK-3 $\beta$  сайт-специфическим фосфорилированием обычно проявляется в активации последующего сигнального пути [8]. Среди субстратов GSK-3 $\beta$  есть молекулы, опосредующие апоптотический путь клеточной гибели, такие как  $\alpha$ -катенин, циклин-D и фактор 1 теплового шока. GSK-3 $\beta$  играет важную роль в развитии многих болезней, таких как болезнь Альцгеймера, паркинсонизм и маниакально-депрессивный психоз [44]. Механизм регуляции активности GSK-3 включает фосфорилирование N-концевых серинов (9 и 21); фосфорилирование этих сайтов динамическое и осуществляется несколькими киназами, а дефосфорилирование GSK-3 осуществляет только фосфатаза-1.

Защита клеток от повреждений, вызванных ишемией/реоксигенацией, может идти, как минимум двумя путями: зависимыми и независимыми от набухания митохондрий [8]. Оба этих пути пересекаются в одной точке, и этой точкой является GSK-3 $\beta$ , ингибирование которой приводит к торможению индукции митохондриальной поры. В результате набухания митохондрий и увеличения пула окисленных субстратов происходит накопление АФК. Последние запускают каскад событий, приводящих к ингибированию GSK-3 $\beta$  через редокс-активацию протеин киназы С.

Другой путь — активация рецепторных тирозинкиназ или определенных рецепторов, ассоциированных с G-белком, что приводит к реализации защитного эффекта (минуя стадию набухания митохондрий) путем ингибирования GSK-3 $\beta$  (за счет путей, в которые вовлечены протеин киназа В/Akt и mTOR/p70s6k, протеинкиназа С или протеинкиназа А). Все эти пути в качестве конечного эффектора имеют GSK-3 $\beta$ , которая является ключевым ферментом в регуляции неспецифиче-



### Открытие митохондриальной поры индуцирует апоптоз [74].

Два возможных механизма индукции неспецифической проницаемости во внутренней мембране митохондрий. 1) Вах или Вак формируют пору во внешней мембране митохондрий, после активации белком, содержащим только ВНЗ, в качестве такого белка работает Bid. 2) открытие неспецифической митохондриальной поры позволяет воде и ионам проникать в матрикс, вызывая набухание матрикса, что приводит к нарушению целостности внешней мембраны и выходу белков межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму.

ской проницаемости митохондрий. В результате ингибирования GSK-3 $\beta$  происходит ограничение открытия митохондриальной поры и, как следствие, — защита клетки от гибели [8].

Сейчас считается общепризнанным, что митохондрия играет одну из ключевых ролей в развитии и регуляции апоптотической программы в клетке [45]. На этой органелле замыкается множество сигнальных путей, и они образуют столь сложную систему взаимодействий, что во многих случаях механизмы действия того или иного сигнала не выяснены, а данные от разных исследователей абсолютно противоположны [46].

В первую очередь, изменение митохондрий при апоптозе выражается в падении трансмембранного потенциала ( $\psi$ ) на внутренней мембране митохондрий [47]. Тем не менее, рассеивание  $\psi$  является общей чертой апоптоза для большинства типов клеток (нейроны, фибробласты, моноциты, лимфоциты, гепатоциты, различные опухолевые клетки и др.) и не зависит от индуктора (токсины, неоптимальные условия культивирования, специфическое связывание с рецепторами (Fas, TNFR, рецепторы глюкокортикоидов) или удаление обязательных факторов роста, например, сыворотки). Это достаточно раннее событие, за которым следуют характерные апоптотические изменения (конденсация хроматина, расщепление PARP и т. д.). Однако среди исследователей и на сегодняшний день нет единого мнения, является ли коллапс  $\psi$  причиной или следствием изменений, происходящих в клетке при апоптозе.

Вместе с падением  $\psi$  в митохондриях происходят более глубокие процессы, связанные с изменением проницаемости мембран и выходом из межмембранного пространства различных, в том числе, апоптогенных, факторов. Именно нарушение барьерной функции митохондриальных мембран является ключевым звеном в развитии апоптоза. Этот процесс связан с образованием в митохондриальных мембранах мегаканалов, так называемых неспецифических пор (в англоязычной литературе permeability transition pore — PTP), открытие которых приводит к драматическим последствиям для митохондрии и всей клетки. Комплекс поры имеет весьма сложное строение и систему регуляции, это обусловлено тем, что изменение проницаемости митохондриальных мембран представляет одно из центральных координационных явлений апоптоза (рисунок).

Точный состав порового комплекса, несмотря на длительное изучение, не известен. По косвенным данным считается,

что он может включать в себя цитозольные белки (гексокиназа); белки наружной мембраны (зависимый от напряжения анионный канал (VDAC), периферический бензодиазепиновый рецептор PBR, порины); внутримембранные белки (креатинкиназа); по меньшей мере, один белок внутренней мембраны (аденин-нуклеотидный транслокатор) и, по меньшей мере, один белок матрикса (циклофилин D). Вероятнее всего, пора как таковая образуется во внутренней мембране митохондрии [48, 49], но при этом может взаимодействовать с белками других мультипротеиновых комплексов, такими как Tim (транспортер внутренней мембраны), Tom (транспортер наружной мембраны) и Bcl-2 комплекс [47]. Имеются данные, что минимальный комплекс неспецифической поры можно воссоздать, используя VDAC, ANT и циклофилин D [50].

Каким бы ни был его точный состав, комплекс поры содержит множество мишеней для внешнего воздействия и регулируется множеством эндогенных физиологических эффекторов. Вот далеко не полный список этих эффекторов: оксид азота, АФК, концентрация ионов (главным образом Ca<sup>2+</sup> и Mg<sup>2+</sup>), концентрация протонов в матриксе митохондрий, концентрация адениновых нуклеотидов (АДФ, АТФ), пиримидиновый редокс-статус (NAD(P)<sup>+</sup> против NAD(P)H<sub>2</sub>), тиоловый редокс-статус (контролируется глутатионом), концентрации липидов, определенные пептиды, изменения в митохондриальном окружении белков, несущих ВНЗ и ВН4 доменов, таких как Bcl-2/Bcl-xL, Bid, Вах и пр. Судя по всему, митохондриальная пора интегрирует различные ответные реакции клетки на стресс, и почти все процессы клеточной гибели вызывают изменение митохондриальной проницаемости.

При нормальных обстоятельствах внутренняя мембрана митохондрии является почти непроницаемой для ионов, тогда как во внешней имеются каналы (в основном это VDAC), способные пропускать молекулы до 1000 Да. Открытие неспецифической поры делает митохондриальные мембраны проницаемыми для растворенных веществ с молекулярной массой 1500 Да и более. Такое изменение проницаемости приводит к немедленной диссипации  $\psi$ . Затем нарушается метаболизм митохондрий, прекращается синтез митохондриальных белков и импорт белков, синтезированных в цитозоле. Идет разобщение окислительного фосфорилирования и прекращение синтеза АТФ, начинается гиперпродукция супероксид-анион радика-

ла; в результате ресурс восстановительных эквивалентов исчерпан. Всех этих изменений достаточно, чтобы вызвать некроз, но остается неясным, как изменение проницаемости включает апоптоз.

Существует несколько теорий участия гигантской поры в апоптотических сигнальных путях. Итог открытия поры — это всегда выход из митохондрии различных апоптогенных факторов, но предлагаемые механизмы этого процесса различны. Кгоетер G. и соавт. (1998) считают, что сама пора, проходя через обе митохондриальные мембраны в месте их сближения, образует канал, позволяющий выходить из межмембранного пространства в цитоплазму белкам, находящимся в митохондрии в обычных условиях [47]. Другие исследователи [48, 49, 51] предлагают механизм, при котором пора открывается только во внутренней мембране, это вызывает нарушение распределения ионов между матриксом и цитоплазмой, происходит набухание митохондрии, приводящее к разрыву внешней мембраны и высвобождению апоптогенных факторов.

Основными веществами, выбрасываемыми митохондрией в цитоплазму являются цитохром С и апоптоз-индуцирующий фактор (AIF), а также прокаспазы 2, 3 и 9 [49]. Недавно показано, что белки DAP3 и PDCD9, входящие в состав митохондриального рибосом, являются апоптогенными и участвуют во многих сигнальных путях, ведущих к гибели клеток [52].

Цитохром С, выйдя в цитоплазму, связывается с белком аraf-1, прокаспазой-9 и АТФ и инициирует каскад протеолитических ферментов семейства каспаз [47, 53]. Аraf-1 считается каркасным белком, основная функция которого состоит в сближении остальных компонентов и формировании инициирующего комплекса. Инициация каскада происходит за счет того, что специальный домен аraf-1 связывает две молекулы прокаспазы-9, их активные центры сближаются и активируют друг друга. Каспазы, активируя друг друга в каскаде реакций, накапливаются в клетке и поражают свои многочисленные мишени, среди которых ламин [53] и регуляторные белки ядра, поли (АДФ-рибозо) полимеразы (PARP), некоторые киназы, актин, белки цитоскелета, фактор фрагментации ДНК. В результате расщепления последнего происходит конденсация хроматина и деградация ДНК [54].

Другой митохондриальный апоптогенный белок, выходящий в цитоплазму, назван AIF (Apoptosis-Inducing Factor). Он обеспечивает другой путь апоптоза и, как показано, может сам по себе вызывать конденсацию хроматина, фрагментацию ДНК и падение  $\psi$  в митохондриях [54]. AIF является флавопротеином (57кД) и гомологичен некоторым бактериальным оксидоредуктазам. Впрочем, показано, что предполагаемая оксидоредуктазная активность AIF не является необходимой для его апоптогенных функций. Сейчас выявлена локализация гена AIF, проведено клонирование и произведен подробный функциональный анализ этого белка [54]. Известно, что при добавлении AIF к изолированным ядрам он вызывает быструю (в течение 1 мин) конденсацию хроматина и крупнокусковую фрагментацию ДНК (фрагменты около 50 тыс. п. н.), но не вызывает олигонуклеосомальную фрагментацию ДНК. При действии на изолированные митохондрии AIF заставляет их высвобождать в раствор цитохром С и каспазу-9. Эти свойства AIF позволяют предположить наличие в живой клетке *in vivo* петли положительной обратной связи, в результате которой происходит амплификация сигнала и очень быстрое его распространение. Показано, что выход цитохрома С и AIF из одной митохондрии происходит за 1 минуту, а из всех митондриальных клеток — за 5 минут, причем изменение проницаемости митондриальных мембран носит взрывной характер. После выхода AIF в цитоплазму он начинает активно транспортироваться в ядро, для чего в его аминокислотной последовательности существуют специальные сигналы ядерной локализации (NLS).

Таким образом, можно сделать вывод о существовании двух независимых путей, связывающих митохондрию с ядерным апоптозом: AIF, действующий на ядро самостоятельно, и цитохром С, действующий через каспазный каскад.

Так как поверхность внутренней мембраны существенно больше внешней, то набухание матрикса приводит к расправлению крист, в результате чего внешняя мембрана разрывается [55, 56]. Вторая точка зрения предусматривает специфический выход апоптотических факторов из межмембранного пространства без разрыва внешней мембраны митохондрии. Отметим, что исходно внешняя мембрана потенциально имеет более высокую проницаемость за счет наличия в ней VDAC. В открытом состоянии VDAC позволяет пропускать молекулы до 1,5 кДа. Предположение, что VDAC может организовывать олигомеры, через которые возможен транспорт белков, например цитохрома С [57], скептически воспринимается классическими исследователями митохондриального порина. Более вероятной кажется олигомеризация проапоптотического белка Вах (и/или ВАК), способного образовывать гигантские поры, через которые может пройти цитохром С [58]. Известно, что в митохондриальных контактных сайтах имеется некое количество проапоптотических Вах и цитохрома С, первый из которых не проявляет проапоптотических свойств, а второй не связан с дыхательной цепью. Вполне вероятно, что контактные сайты митондриальных мембран содержат ту фракцию цитохрома С, которая входит в состав освобождаемого из митохондрии пула при прохождении апоптотического сигнала. Считается, что неспецифическая непроницаемость (НП) внутренней мембраны является обязательным атрибутом митохондриального этапа апоптотического каскада. Более того, именно белковый комплекс контактных сайтов, ответственный за индукцию НП [59], является ключевым звеном митохондриального участия в апоптозе. В опытах *in situ* клеточная гибель, вызванная сменой гипоксии нормоксией, сопровождаемая окислительным стрессом, происходит с обязательной индукцией митохондриальной НП [8]. Становится ясным, что в системах, в которых апоптотическая гибель является нежелательной (в частности, в постмитотических клетках, таких как нейроны или кардиомиоциты), стратегия по предотвращению гибели должна строиться на предотвращении индукции митохондриальной НП [60].

## Фармакологическое прекондиционирование

Исходя из описанных механизмов ишемического ПК становится очевидной необходимость поиска фармакологических средств, способных имитировать сигнальные каскады ПК. Экспериментальные работы, развивающие данное направление, представляются весьма многообещающим. Следующие вещества были тестированы на предмет наличия эффекта preconditionирования: аденозин, агонисты рецепторов аденозина, РКС агонисты, препараты, открывающие КАТР каналы, доноры оксида азота [26]. Однако, прямой перенос полученных результатов в клинику часто невозможен, т. к. многие из этих веществ имеют выраженные гемодинамические эффекты. Например, диазоксид и аденозин, открывающий митохондриальные КАТР каналы и имитирующие preconditionирование, со снижением числа гибнущих клеток в моделях на животных, вызывают значительную гипотензию у людей. Имеются и другие нежелательные побочные эффекты, такие как аритмогенный (аденозин, вещества, открывающие КАТР каналы) и канцерогенный (активаторы протеинкиназы) эффекты.

Другие средства, имитирующие ИПК, достаточно давно используются в клинике, хотя их эффект изначально не связывался с preconditionированием. Препарат Никорандил (Nicorandil), открывающий КАТР каналы, в клинике используется как антиангинальный препарат [61], а аденозин рекомендуется как дополнение к кардиоплегии. В последнем случае уменьшается потребность в использовании больших доз инотропных препаратов после кардиохирургических операций [62]. В другом исследовании, аденозин уменьшал размер повреждения у больных с инфарктом передней стенки миокарда [63]. Однако, реализуется ли описанный эффект через меха-

низмы ПК, пока не ясно, т. к. аденозин использовался не перед окклюзией, а в процессе реперфузии.

Говоря о сигнальной роли АФК, необходимо указать, что в ряде случаев образование радикалов кислорода несет прямой защитный эффект для клеток. Представление о цитотоксичности и опасности АФК основано на данных ранних работ по исследованию влияния оксидантов и радиации на ткани и органы, а наибольший вклад в понимание роли АФК как защитных агентов внесли более поздние исследования preconditionирования (ПК) [4].

Множество работ, посвященных ишемическому preconditionированию доказало защитное действие малых доз АФК при последующем ишемическом повреждении, вызванном окислительным стрессом. В кардиомиоцитах в ходе 10-минутного ишемического preconditionирования развивается генерация АФК, в 3 раза снижающая повреждение клеток при последующей длительной ишемии/реперфузии [64]. При этом применение антиоксидантов в период тренировки снижало продукцию оксидантов и приводило к потере защитного эффекта. Аналогичные защитные эффекты ишемической тренировки (путем пережатия кровеносных сосудов) были показаны и для целых органов, в том числе миокарда [65] и почки [66]. При этом на уровне целого организма действие антиоксидантов в период ПК приводило к снижению защитного эффекта, а добавление экзогенных оксидантов само индуцировало эффект ПК.

Среди механизмов, обуславливающих защитный эффект АФК при ПК, назывались активация митохондриального K<sup>+</sup>ATPФ-канала, активация киназных каскадов (МАРК, протеинкиназа С). Однако относительно недавно появилось предположение, что точкой приложения множества сигнальных путей, ведущих к выработке устойчивости к развитию неспецифической проницаемости (НП) митохондрий и окислительного стресса в ходе И/Р, является киназа гликогенсинтазы-3β (GSK-3β) [8]. Воздействие АФК на GSK-3β осуществляется через редокс активацию протеинкиназы С, которая ингибирует GSK-3β, что предотвращает развитие НП. В этой связи оказалась крайне интересной роль солей лития, защищающих клетки почки от гибели, вызванной ишемией/реоксигенацией [67]. Прединкубация клеток с солями лития снижает избыточную продукцию АФК при ишемии/реоксигенации.

## Литература

1. Меерсон Ф. З. Механизмы адаптации к высотной гипоксии. Физиология человека и животных. Итоги науки и техники. М.: ВИНТИ; 1974. 7–62.
2. Коваленко Е. А., Ткачук Е. Н., Эренбург И. В., Шаов М. Т. Новый принцип адаптации и лечения в медицине. Сб. научн. трудов «Актуальные проблемы гипоксии». М.; 1995. 112.
3. Архипенко Ю. В., Сазонтова Т. Т., Меерсон Ф. З. Разнонаправленное действие адаптации к непрерывистой и прерывистой гипоксии на антиоксидантные ферменты и уровень продуктов перекисного окисления липидов. *Hypoxia Medical J.* 1994; 3: 11–15.
4. Murry C. E., Jennings R. B., Reimer K. A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74 (5): 1124–1136.
5. Kloner R. A., Bolli R., Marban E. et al. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. *Circulation* 1998; 97 (18): 1848–1867.
6. Miura T., Goto M., Urabe K. et al. Does myocardial stunning contribute to infarct size limitation by ischemic preconditioning? *Circulation* 1991; 84 (6): 2504–2512.
7. Murry C. E., Richard V. J., Jennings R. B., Reimer K. A. Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *Am. J. Physiol.* 1991; 260 (3 Pt 2): H796–H804.
8. Juhaszova M., Zorov D. B., Kim S. H. et al. Glycogen synthase kinase-3β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J. Clin. Invest.* 2004; 113 (11): 1535–1549.
9. Kuzuya T., Hoshida S., Yamashita N. et al. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ. Res.* 1993; 72 (6): 1293–1299.
10. Marber M., Walker D., Yellon D. Ischaemic preconditioning. *BMJ* 1994; 308 (6920): 1–2.

Предполагается, что в основе защитных эффектов лития лежит торможение активности GSK-3β, которая инактивируется при фосфорилировании серина в 9-положении. Показано, что введение животным перед ишемией почки солей лития *in vivo* предупреждает развитие почечной недостаточности.

В результате интенсивных поисков была открыта роль дельта-опиоидных рецепторов в механизмах ишемического preconditionирования [68].

Оказалось, что использование дельта-антагонистов опиоидных рецепторов отменяет защитные эффекты preconditionирования на модели экспериментального инфаркта миокарда у крыс. А использование морфина и синтетических агонистов дельта-опиоидных рецепторов (DADLE-аналог лейзнкефалина) оказывают протекторный эффект, подобный ИП. Причем интересно отметить, что доза морфина была в 3 раза выше используемой в клинике [69]. В этой связи хотелось бы вспомнить и наши ранние работы, посвященные защитному эффекту даларгина — отечественного синтетического аналога дельта-опиоидных рецепторов [70]. Тогда, более 20 лет назад, мы не смогли объяснить механизмы кардио-, гепато- и панкреатопротекции, наблюдаемые после введения препарата. Возможно, настало время вернуться к тестированию синтетических агонистов дельта-опиоидных рецепторов, теперь уже на наличие эффекта фармакологического preconditionирования.

Впервые о фармакологическом preconditionировании ингаляционными анестетиками стало известно в 1997 году, когда одновременно двумя группами исследователей было обнаружено, что ингаляция 1 МАК изофлюрана в течение 30 минут перед 60 минутной окклюзией коронарной артерии кролика с последующей 3-часовой реинфузией вызывает уменьшение зоны инфаркта на 50–60% [71, 72].

Дальнейшее изучение этого явления показало, насколько схожи молекулярные механизмы анестетического и ишемического preconditionирования [73, 75].

Таким образом, проблема preconditionирования, зародившись в клинике, в клинику и должна вернуться. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о чрезвычайной перспективности исследований в данном направлении. Клинические наблюдения, доступные на настоящий момент, будут суммированы нами в последующей публикации.

11. Zager R. A., Iwata M., Burkhart K. M., Schimpf B. A. Postischemic acute renal failure protects proximal tubules from O<sub>2</sub> deprivation injury, possibly by inducing uremia. *Kidney Int.* 1994; 45 (6): 1760–1768.
12. Zager R. A., Burkhart K. M., Gmur D. J. Postischemic proximal tubular resistance to oxidant stress and Ca ionophore-induced attack. Implication for reperfusion injury. *Lab. Invest.* 1995; 72 (5): 592–600.
13. Lee H. T., Emala C. W. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A (1) and A (3) receptors. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2000; 278 (3): F380–F387.
14. Bellomo R., Bonventre J., Macias W., Pinsky M. Management of early acute renal failure: Focus on post-injury prevention. *Curr. Opin. Crit. Care* 2005; 11 (6): 542–547.
15. Rudiger Y. A., Kang K. J., Sindram D. et al. Comparison of ischemic preconditioning and intermittent and continuous inflow occlusion in the murine liver. *Ann. Surg.* 2002; 235 (3): 400–407.
16. Clavien P. A., Yadav S., Sindram D., Bentley R. C. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann. Surg.* 2000; 232 (2): 155–162.
17. Chouker A., Schachtner T., Schauer R. et al. Effects of pringle manoeuvre and ischaemic preconditioning on haemodynamic stability in patients undergoing elective hepatectomy: a randomized trial. *Br. J. Anaesth.* 2004; 93 (2): 204–211.
18. Hotter G., Closa D., Prados M. et al. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996; 222 (1): 27–32.
19. Aksoyek S., Cinel I., Avlan D. et al. Intestinal ischemic preconditioning protects the intestine and reduces bacterial translocation. *Shock* 2002; 18 (5): 476–480.
20. Tamion F., Richard V., Lacoume Y., Thuillez C. Intestinal preconditioning prevents systemic inflammatory response in hemorrhagic shock. Role of HO-1. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2002; 283 (2): G408–G414.

21. Kaul T. K., Fields B. L., Riggins L. S. et al. Adult respiratory distress syndrome following cardiopulmonary bypass: incidence, prophylaxis and management. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 1998; 39 (6): 777–781.
22. de Perrot M., Liu M., Waddell T. K., Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167 (4): 490–511.
23. Kitagawa K., Matsumoto M., Tagaya M. et al. Ischemic tolerance phenomenon found in the brain. *Brain Res.* 1990; 528 (1): 21–24.
24. Kirino T. Ischemic tolerance. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22 (11): 1283–1296.
25. Sitzer M., Foerch C., Neumann-Haefelin T. et al. Transient ischemic attack preceding anterior circulation infarction is independently associated with favourable outcome. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2004; 75 (4): 659–660.
26. Cohen M. V., Baines C. P., Downey J. M. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP channel. *Annu. Rev. Physiol.* 2000; 62: 79–109.
27. Jennings R. B., Sebbag L., Schwartz L. M. et al. Metabolism of preconditioned myocardium: effect of loss and reinstatement of cardioprotection. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2001; 33 (9): 1571–1588.
28. Charlat M. L., O'Neill P. G., Hartley C. J. et al. Prolonged abnormalities of left ventricular diastolic wall thinning in the «stunned» myocardium in conscious dogs: time course and relation to systolic function. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1989; 13 (1): 185–194.
29. Murry C. E., Richard V. J., Reimer K. A., Jennings R. B. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ. Res.* 1990; 66 (4): 913–931.
30. Fleet W. F., Johnson T. A., Graebner C. A., Gettes L. S. Effect of serial brief ischemic episodes on extracellular K<sup>+</sup>, pH, and activation in the pig. *Circulation* 1985; 72 (4): 922–932.
31. Armstrong S., Downey J. M., Ganote C. E. Preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: induction by metabolic stress and blockade by the adenosine antagonist SPT and calphostin C, a protein kinase C inhibitor. *Cardiovasc. Res.* 1994; 28 (1): 72–77.
32. Pain T., Yang X. M., Critz S. D. et al. Opening of mitochondrial K (ATP) channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ. Res.* 2000; 87 (6): 460–466.
33. Grover G. J., D'Alonzo A. J., Dzwonczyk S. et al. Preconditioning is not abolished by the delayed rectifier K<sup>+</sup> blocker dofetilide. *Am. J. Physiol.* 1996; 271 (3 Pt 2): H1207–H1214.
34. Yao Z., Cavero I., Gross G. J. Activation of cardiac KATP channels: an endogenous protective mechanism during repetitive ischemia. *Am. J. Physiol.* 1993; 264 (2 Pt 2): H495–H504.
35. Auchampach J. A., Grover G. J., Gross G. J. Blockade of ischaemic preconditioning in dogs by the novel ATP dependent potassium channel antagonist sodium 5-hydroxydecanoate. *Cardiovasc. Res.* 1992; 26 (11): 1054–1062.
36. Garlid K. D., Paucek P., Yarov-Yarovoy V. et al. The mitochondrial KATP channel as a receptor for potassium channel openers. *J. Biol. Chem.* 1996; 271 (15): 8796–8799.
37. Garlid K. D., Paucek P., Yarov-Yarovoy V. et al. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. Possible mechanism of cardioprotection. *Circ. Res.* 1997; 81 (6): 1072–1082.
38. Jennings R. B. Role of protein kinase C in preconditioning with ischemia against lethal cell injury. *Basic Res. Cardiol.* 1997; 92 (Suppl 2): 40–42.
39. Ping P., Zhang J., Qiu Y. et al. Ischemic preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms epsilon and eta in the heart of conscious rabbits without subcellular redistribution of total protein kinase C activity. *Circ. Res.* 1997; 81 (3): 404–414.
40. Ping P., Zhang J., Zheng Y. T. et al. Demonstration of selective protein kinase C-dependent activation of Src and Lck tyrosine kinases during ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Circ. Res.* 1999; 85 (6): 542–550.
41. Ping P., Takano H., Zhang J. et al. Isoform-selective activation of protein kinase C by nitric oxide in the heart of conscious rabbits: a signaling mechanism for both nitric oxide-induced and ischemia-induced preconditioning. *Circ. Res.* 1999; 84 (5): 587–604.
42. Downey J. M., Yellon D. M. The biology of preconditioning. In: Heyndrickx G. R., Vatner S. F., Wijns W. (eds.). *Stunning, hibernation and preconditioning: clinical pathophysiology of myocardial ischemia*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997. 105–220.
43. Vahlhaus C., Schulz R., Post H. et al. No prevention of ischemic preconditioning by the protein kinase C inhibitor staurosporine in swine. *Circ. Res.* 1996; 79 (3): 407–414.
44. Kwok J. B., Hallupp M., Loy C. T. et al. GSK3B polymorphisms alter transcription and splicing in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 2005; 58 (6): 829–839.
45. Zorov D. B., Juhaszova M., Yaniv Y. et al. Regulation and pharmacology of the mitochondria permeability transition pore. *Cardiovasc. Res.* 2009; 83 (2): 213–225.
46. Schaffer S. W., Suleiman M.-S. *Mitochondria*. New York: Springer Science; 2007. 349.
47. Kroemer G., Dallaporta B., Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. *Annu. Rev. Physiol.* 1998; 60: 619–642.
48. Kowaltowski A. J., Castilho R. F., Vercesi A. E. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress. *FEBS Lett.* 2001; 495 (1–2): 12–15.
49. Gottlieb R. A. Mitochondria: execution central. *FEBS Lett.* 2000; 482 (1–2): 6–12.
50. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem. J.* 1999; 341 (Pt 2): 233–249.
51. Skulachev V. P. How proapoptotic proteins can escape from mitochondria? *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 29 (10): 1056–1059.
52. Koc E. C., Burkhardt W., Blackburn K. et al. Identification of four proteins from the small subunit of the mammalian mitochondrial ribosome using a proteomics approach. *Protein Sci.* 2001; 10 (3): 471–481.
53. Haunstetter A., Izumo S. Future perspectives and potential implications of cardiac myocyte apoptosis. *Cardiovasc. Res.* 2000; 45 (3): 795–801.
54. Susin S. A., Lorenzo H. K., Zamzami N. et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 1999; 397 (6718): 441–446.
55. Skulachev V. P. Why are mitochondria involved in apoptosis? Permeability transition pores and apoptosis as selective mechanisms to eliminate superoxide-producing mitochondria and cell. *FEBS Lett.* 1996; 397 (1): 7–10.
56. Rostovtseva T. K., Tan W., Colombini M. On the role of VDAC in apoptosis: fact and fiction. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2005; 37 (3): 129–142.
57. Antonsson B., Montessuit S., Lauper S. et al. Bax oligomerization is required for channel-forming activity in liposomes and to trigger cytochrome c release from mitochondria. *Biochem. J.* 2000; 345 (Pt 2): 271–278.
58. Letai A., Bassik M. C., Walensky L. D. et al. Distinct BH3 domains either sensitize or activate mitochondrial apoptosis, serving as prototype cancer therapeutics. *Cancer Cell* 2002; 2 (3): 183–192.
59. Griffiths E. J., Halestrap A. P. Protection by cyclosporin A of ischemia/reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1993; 25 (12): 1461–1469.
60. Zorov D. B., Kinnally K. W., Tedeschi H. Voltage activation of heart inner mitochondrial membrane channels. *J. Bioenerg. Biomembr.* 1992; 24 (1): 119–124.
61. Dana A., Yellon D. M. ATP dependent K<sup>+</sup> channel: a novel therapeutic target in unstable angina. *Eur. Heart J.* 1999; 20 (1): 2–5.
62. Mentzer R. M., Rahko P. S., Molina-Viamonte V. et al. Safety, tolerance, and efficacy of adenosine as an additive to blood cardioplegia in humans during coronary artery bypass surgery. *Am. J. Cardiol.* 1997; 79 (12A): 38–43.
63. Mahaffey K. W., Puma J. A., Barbagelata N. A. et al. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine (AMISTAD) trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 34 (6): 1711–1720.
64. Vanden Hoek T., Becker L. B., Shao Z. H. et al. Preconditioning in cardiomyocytes protects by attenuating oxidant stress at reperfusion. *Circ. Res.* 2000; 86 (5): 541–548.
65. Tang X. L., Takano H., Rizvi A. et al. Oxidant species trigger late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002; 282 (1): H281–H291.
66. Ogawa T., Nussler A. K., Tuzuner E. et al. Contribution of nitric oxide to the protective effects of ischemic preconditioning in ischemia-reperused rat kidneys. *J. Lab. Clin. Med.* 2001; 138 (1): 50–58.
67. Васильева А. К., Плотицков Е. Ю., Казаченко А. В. и соавт. Ингибирование GSK-3β снижает индуцированную ишемией гибель клеток почки. *Бюл. эксперим. биологии и медицины* 2010; 149 (3): 276–280.
68. Schultz J. J., Hsu A. K., Gross G. J. Ischemic preconditioning and morphine-induced cardioprotection involve the delta (delta)-opioid receptor in the intact rat heart. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1997; 29 (8): 2187–2195.
69. Bell S. P., Sack M. N., Patel A. et al. Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 36 (7): 2296–2302.
70. Лухвицес В. В. Интраоперационная органопротекция как необходимый компонент сбалансированной анестезии: автореф. дисс. ... д.м.н. М., 1991. 37.
71. Cason B. A., Gamperl A. K., Slocum R. E., Hickey R. F. Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology* 1997; 87 (5): 1182–1190.
72. Kersten J. R., Schmeling T. J., Pagel P. S. et al. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K (ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 1997; 87 (2): 361–370.
73. Minguet G., Joris J., Lamy M. Preconditioning and protection against ischemia-reperfusion in non-cardiac organs: a place for volatile anaesthetics? *Eur. J. Anaesthesiol.* 2007; 24 (9): 733–745.
74. Плотицков Е. Ю. Митохондрия как центральное звено защитных и повреждающих сигнальных путей при развитии почечной недостаточности: автореф. дисс. д.м.н. М., 2009. 395.
75. Ломиворотов В. В., Пономарев Д. Н., Шмырев В. А. и соавт. Применение дистанционного ишемического preconditionирования у кардиохирургических больных. *Общая реаниматология* 2011; VII (3): 63–69.

Поступила 30.05.11