

Доцент Мазина Н. К., Воробьева В. В.

СИСТЕМЫ ЭНЕРГОПРОДУКЦИИ МИОКАРДА КРОЛИКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФАКТОРОВ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ

2. ИЗМЕНЧИВОСТЬ РЕГУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ in vitro

Кировская государственная медицинская академия

Способность общей вибрации при разных сочетаниях ее независимых факторов вызывать тканевую гипоксию в вибросенситивных органах и тканях [2,6,14,15] явилась основанием для экспериментальной разработки неинвазивной модели дизрегуляционного низкоэнергетического сдвига в виде вибрационно-опосредованных митохондриальных дисфункций.

Предварительные исследования показали, что модель вибрационных повреждений митохондрий (Мх) информативна для комплексного анализа особенностей синхронного проявления дизрегуляции на разных уровнях биологической интеграции, в том числе - на уровне тканевых систем энергопродукции, а также для обоснования схем энерготропной фармакологической защиты. Варьируя независимые факторы вибрации частоту, длительность и амплитуду получили широкий спектр ответных реакций нативных Мх гепатоцитов и кардиомиоцитов (КМЦ) со стороны множества исследуемых **кинетиических** параметров-маркеров от стимуляции до отсутствия ответа или даже угнетения активности [8,9].

Цель следующего этапа работы состояла в том, чтобы с помощью направленного факторного эксперимента выявить наличие и структуру взаимосвязи вибрационных факторов-причин, обозначенных нами как внешние дизрегуляторы, и **регуляторных** параметров-откликов, характеризующих функциональную активность систем энергопродукции в миокарде.

Материалы и методы. Моделирование воздействия факторов общей вибрации in vivo на кроликах-самцах (N=60) и анализ изменчивости параметров-откликов нативных Мх КМЦ in vitro проводили по описанным ранее методикам [8,9].

В качестве параметров-откликов, характеризующих способность экзогенных субстратов оказывать регулирующее воздействие на системы энергопродукции миокарда, использовали показатели стимуляции эндогенного дыхания (СД) экзогенными субстратами (в виде их натриевых солей) янтарной (ЯК) и глутаминовой (ГК) кислотой **СД-глу** и **СД-як** и показатели, отражающие уровень сопряженности окисления с фосфорилированием в дыхательной цепи, то есть, ее способность конвертировать энергию окисления, высвобождающуюся при переносе электронов, в разные формы (АТФ, ГТФ, $\Delta\mu\text{H}^+$, $\Delta\mu\text{H}^+$ и др.) **СД-глу/днф** и **СД-як/днф** [12,18,19].

Их вычисляли по формулам:

$$\text{СД}_{\text{субстр}} = \text{V}_{\text{субстр}} / \text{V}_{\text{энд}},$$

$$\text{СД}_{\text{субстр-днф}} = \text{V}_{\text{субстр-днф}} / \text{V}_{\text{субстр}},$$

где: **СД субстр** – стимуляция эндогенного дыхания после введения в ячейку экзогенного сукцината или глутамата, **V_{субстр}** – скорость дыхания нативных Мх после добавления в ячейку экзогенного субстрата, **V_{энд}** – скорость окисления эндогенных субстратов; **СД-субстр-днф** – стимуляция субстратного дыхания 2,4-ДНФ, **V_{субстр-днф}** – скорость окисления экзогенного субстрата после добавления 2,4-ДНФ до универсальной разобщающей концентрации 20мкМ [7,11]. Максимальный резерв дыхания (**МРД**) вычисляли как разницу между скоростью дыхания в условиях максимальной АТФ-азной нагрузки и скоростью дыхания в состоянии покоя [7,13]:

$$\text{МРД} = \text{V}_{\text{субстр-днф}} - \text{V}_{\text{субстр}}.$$

Совокупность значений регуляторных параметров **СДглу**, **СДглу-днф**, **СДяк**, **СДяк-днф** и **МРД-як**, **МРД-глу** выдерживала тесты на нормальность распределения по критериям Колмогорова-Смирнова, Лиллиефорса и Шапиро-Уилка ($p > 0,05$), что позволило использовать дисперсионный анализ для множественных сравнений и количественной оценки активности систем энергопродукции КМЦ по избранным показателям.

Экспериментальное исследование планировали, а полученные результаты статистически обрабатывали по матрице полного факторного эксперимента (ПФЭ) 2^3 с применением метода множественных сравнений по LSD-тесту [1,17]. Массив, подвергнутый многомерному анализу, содержал 360 значений регуляторных показателей.

При статистической обработке результатов использовали модуль ANOVA/ MANOVA в ППП STATISTICA 6,0 (Stat Soft, USA) [1,17] для неравного числа наблюдений в опытных точках.

Результаты и обсуждение. Наличие функциональных и статистических связей между независимыми факторами частоты и длительности, а также их сочетаниями и параметрами, отражающими регуляцию функциональной активности Мх КМЦ в эксперименте, удалось дифференцировать и количественно оценить с помощью последовательных алгоритмов многомерной статистики. Исследуемые показатели **СД-субстр.**, **СД-днф** и **МРД** относят к регуляторным, так как по своей сути они воплощают многообразие и неоднозначность эффектов, интегрирующих многие процессы, происходящие в системах энергопродукции заинтересованных тканей под внешними воздействиями, направленными на целостный организм.

Согласно данным, представленным в таблице 1, факторы вибрации в большинстве случаев вносили существенный вклад в характеристики изменчивости параметров регулирующего типа. Влияние частоты (А) на разброс значений **СД-глу**, **СД-глу/днф**, **СД-як/днф** и **МРД-як** характеризовалось высоким уровнем статистической значимости. Дисперсии **СД-глу/днф**, **СД-як/днф** и **МРД** на обоих субстратах также находились под существенным влиянием суммации эффектов вибрации во времени (фактор В). Однако, в большинстве случаев наиболее достоверное ($0,000 \dots \leq p \leq 0,00065$) воздействие на все исследованные регуляторные показатели оказывало сочетание частоты и длительности (А*В).

По весомости вклада факторов вибрации в изменчивость исследованных признаков (показатель К, %) и по соотношению совокупности контролируемых и случайных факторов ориентировочно судили о структуре связей параметров регулирующего типа. Цифровой материал таблицы 1, указывает на то, что общее влияние контролируемых факторов в наибольшей степени проявилось на дисперсиях регуляторных показателей, характеризующих стимулирующее действие

глутамата и степень разобоченности окисления-фосфорилирования (СД-днф) на глутамате и сукцинате.

Таблица 1. Вклад факторов общей вибрации в дисперсии регуляторных параметров-откликов нативных Мх КМЦ кроликов

Параметр-отклик	Факторы вибрации их взаимодействие	SS	df	MS	F	P	K, %
СД-глу	A	2,94	2	1,47	29,14	0,000..	41,0
	B	0,29	2	0,15	2,88	0,065	4,1
	A*B	1,36	4	0,34	6,75	0,0002	19,0
	Контролируемые	4,59					64,4
	Неконтролируемые	2,54	51		-	-	35,6
СД-як	A	1,05	2	0,53	0,925	0,403	2,5
	B	0,97	2	0,49	0,856	0,431	2,3
	A*B	10,85	4	2,71	4,78	0,0024	26,0
	Контролируемые	12,87					30,8
	Неконтролируемые	28,92	51		-		69,2
СД-глу-днф	A	3,39	2	1,69	3,93	0,026	5,9
	B	8,28	2	4,1	9,59	0,0003	14,6
	A*B	24,98	4	6,24	14,47	0,000...	44,08
	Контролируемые	36,65					65,0
	Неконтролируемые	19,73	51				35,0
СД-як-днф	A	2,44	2	1,22	13,64	0,000..	23,5
	B	1,03	2	0,51	5,72	0,006	9,9
	A*B	2,35	4	0,59	6,56	0,000...	22,6
	Контролируемые	5,82					56,0
	Неконтролируемые	4,57	51				44,0
МРД-глу	A	420,03	2	210,02	1,22	0,302	2,74
	B	2187,29	2	1093,64	6,377	0,0034	14,28
	A*B	3967,59	4	991,9	5,78	0,00065	25,89
	Контролируемые	6574,91					42,91
	Неконтролируемые	8746,65	51	171,5			57,09
МРД-як	A	1095,56	2	547,78	8,21	0,00081	10,35
	B	849,75	2	424,87	6,37	0,0034	8,03
	A*B	1747,92	4	436,98	6,55	0,00025	16,51
	Контролируемые	3693,23					34,89
	Неконтролируемые	6891,41	51				65,11

Примечание: 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. Однородность дисперсий признаков, анализируемых в группах фиксированных факторов, проверяли по тестам Левена и Брауна-Форсайта ($p > 0,05$) [1,17].

Общий вклад контролируемых факторов в дисперсию регуляторных показателей при окислении сукцината и МРД обоих субстратов оказался меньше. Здесь, на наш взгляд, проявилось несоответствие между высокой достоверностью обобщенных откликов регуляторных параметров и достаточно высокими значениями остаточной изменчивости в виде вклада неконтролируемых факторов (от 35,6 до 69,2 %) с одной стороны, и видом уравнений регрессии (1-4), описывающих модель на высоком уровне информативности и достоверности – с другой. Диапазоны рассчитанных коэффициентов детерминации ($R^2 \geq 0,55$) и уровней значимости коэффициентов регрессии ($0,000... < p \leq 0,037$), полученных для членов уравнений, свидетельствовали что модели вполне удовлетворительно «подогнаны» к имеющемуся в нашем распоряжении массиву данных.

$$\begin{aligned} \text{СД-глу} &= 1,048 - 0,28 A - 0,52 A^2 + 0,2 AB, & R^2 &= 0,66 & (1); \\ \text{СД-як} &= 2,35 + AB, & R^2 &= 0,55 & (2); \\ \text{СД-глу/днф} &= 2,1 + 0,72 AB, & R^2 &= 0,61 & (3); \\ \text{СД-як/днф} &= 1,4 - 0,72 AB, & R^2 &= 0,55 & (4). \end{aligned}$$

Это побудило нас предположить существование иных, отличных от второго порядка, нелинейных воздействий внешних факторов на параметры-отклики, а «весомость» случайных факторов в разбросе данных при дисперсионно-регрессионном анализе отнести к мнимой.

Действительно, визуальный анализ изменчивости средних значений регуляторных показателей при интервальном оценивании и итоги множественных сравнений позволили выявить сложный, как правило, разнонаправленный характер взаимоотношения факторов вибрации с регуляторными показателями активности систем энергопродукции миокарда (рис.1).

Оказалось, что СД-глу при частоте 8 Гц высоко достоверно ($p = 0,000...$) уменьшалась на 40% (вплоть до

угнетающего действия на дыхание, т.к. $СД < 1,0$), при 44 Гц – на 23% ($p=0,000027$). В противоположность этому, варьирование частотного фактора не приводило к достоверным изменениям СД-як по сравнению с контролем. СД-днф/глу при 8 Гц увеличивалась на 17%, при 44 Гц уменьшилась на 12%, демонстрируя лишь тенденции в направленности изменений, т.к. отличия от уровня контрольных животных оказались недостоверными. СД-днф/як при переходе на высокочастотный режим вибрации 44 Гц высоко достоверно уменьшалась на 23 % ($p=0,00027$).

Аналогичный метод визуального анализа, предпринятый для оценки направленности воздействия второго фактора – длительности вибрационного воздействия (суммации эффектов вибрации в зависимости от количества ежедневных сеансов), также указал на нелинейность и разнонаправленность эффектов. Как следует из представления данных на рисунке 2, влияние суммации эффектов вибрации во времени на уровне систем энергопродукции Мх КМЦ проявилось в виде достоверного торможения дыхания (на 27%, $p=0,000...$) экзогенным глутаматом к 56 сеансу вибрации.

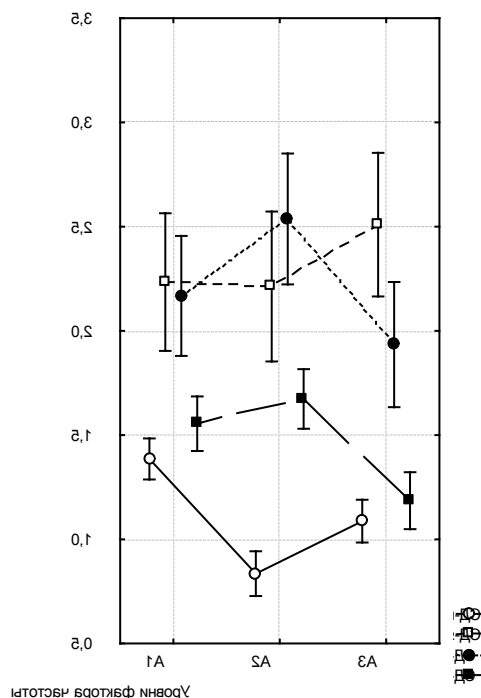


Рис.1. Изменчивость значений регуляторных параметров функциональной активности МХ КМЦ кроликов при варьировании частоты общей вибрации. Ось абсцисс: значения частоты на разных уровнях варьирования, ось ординат – значения показателей стимуляции дыхания нативных Мх. На плоскости средние значения показателей СД приведены с указанием 95% доверительных интервалов. Уровни значимости различий между средними величинами СД по LSD-тесту для множественных сравнений приведены в тексте.

Однозначной зависимости стимулирующего действия сукцината на эндогенное дыхание от длительности вибрационного воздействия не просматривалось, поскольку отсутствовали достоверные различия между группами животных, получивших разное количество сеансов, при множественных сравнениях. После 56 сеансов вибрации стимулирующее действие ДНФ при окислении глутамата уменьшилось (на 23 %, $p=0,0068$), при окислении сукцината – на 17,8 % ($p>0,05$). Стимулирующее действие сукцината на эндогенное дыхание практически не менялось, а стимуляция сукцината оксидазной активности ДНФ уменьшалась, но в меньшей мере.

Таким образом, при суммации эффектов вибрации в течение 56 сеансов снижалась способность глутамата ускорять дыхание Мх, тогда как стимуляция дыхания сукцинатом оставалась по-прежнему на высоком уровне (более 2,0). Для значений параметров регуляции через 7 и 21 сеанс вибрации были характерны небольшой уровень изменчивости и диапазона отклонения от контроля, чем через 56 сеансов. Следует отметить, что при визуальном анализе изменение параметров-откликов стимулирующего действия субстратов было менее выражено, чем у откликов стимулирующего действия разобщителя.

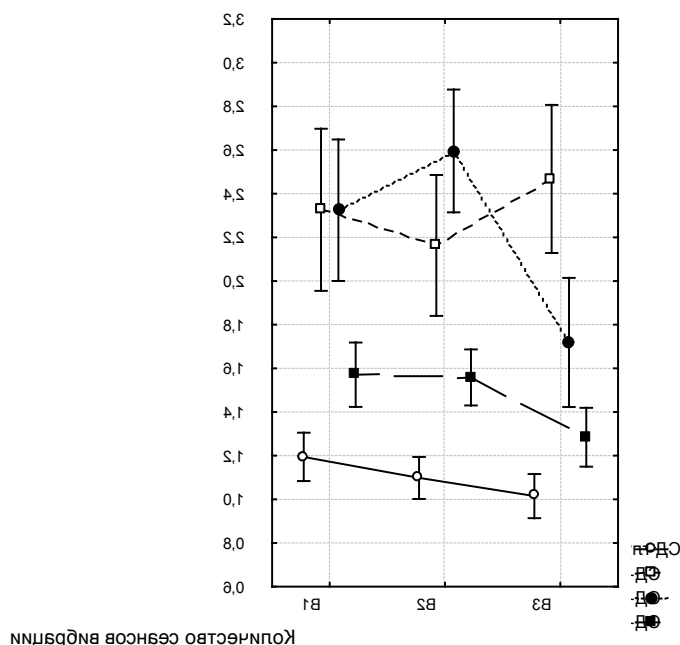


Рис.2. Влияние количества сеансов общей вибрации на регуляторные показатели функциональной активности Мх КМЦ. Ось абсцисс: уровни варьирования фактора длительности вибрационного воздействия; ось ординат – как на рис.1. Уровни значимости различий между средними значениями показателей по LSD-тесту указаны в тексте.

В действительности, факторы вибрации А и В не могут действовать независимо и раздельно. Их однозначное сопоставление и, тем более, количественная оценка, подчас являются достаточно сложной технической задачей поскольку они по-разному сочетаются по частоте, длительности, амплитуде [14]. Между тем, разработка и обоснование схем фармакологической энерготропной защиты от повреждающих воздействий вибрации должны основываться на знаниях общей направленности ее действия на уровне систем энергопродукции тканей-мишеней.

Следуя этому мы провели анализ изменчивости регуляторных параметров при разных сочетаниях факторов А*В. Проявились общие закономерности их нелинейного сложного характера взаимодействий с механизмами регуляции систем энергопродукции КМЦ при окислении экзогенных NAD- и FAD-зависимых субстратов (рис. 3).

ГК (NAD-зависимый субстрат): по мере накопления эффектов вибрации стимулирующее действие глутамата на низкой частоте линейно и достоверно ($p < 0,000...$) уменьшалось, вплоть до эффектов торможения дыхания на 68 % (СД-глу<1,0) через 21 и 56 сеанс. На 56 сеансе низкочастотной вибрации у 2,4-ДНФ также проявилась способность тормозить глутаматоксидазную активность (СД-глу-днф<1,0). Какой-либо отчетливой зависимости значений показателя СД-глу от суммы эффектов вибрации на 44 Гц не проявилось, однако абсолютные значения показателей оказались ниже на 15-20 % ($0,005 \leq p \leq 0,02$) по сравнению с контролем. В течение 7, 21 и 56 сеансов высокочастотной вибрации способность разобщителя стимулировать глутаматоксидазную активность изменялась незначительно. На частоте 8 Гц через 7 и 21 сеанса она увеличивалась на 40 ($p=0,027$) и 74 % ($p=0,000...$), а через 56 сеансов – уменьшилась на 64% ($p=0,000...$) до явного торможения дыхания (СД-глу/днф<1,0).

Вероятно, увеличение стимулирующего действия ДНФ обусловлено снижением пула эндогенных разобщителей в течение 7-21 сеанса, а торможение - с дополнительным накоплением эндогенных разобщителей в процессе суммирования воздействия вибрации и в разрыхлении NAD-зависимого участка ДЦ.

ЯК (FAD-зависимый субстрат): во время сеансов вибрации при 8 Гц СД-як не проявляла достоверных изменений по сравнению с контролем. Такая же картина наблюдалась и при высокочастотной вибрации в течение 7 и 21 сеанса. Однако через 56 сеансов при 44 Гц наблюдали значимый всплеск стимулирующего эффекта сукцината на 55 % ($p=0,0051$). При 8 Гц показатель сопряженности у животных после 7-го и 21-го сеансов увеличивался на 25-33% ($0,01 \leq p \leq 0,043$), а на 56 сеанс уменьшался на 50% ($p=0,000...$). В противоположность этому, изменчивость стимулирующего действия ДНФ на сукцинатное дыхание при 44 Гц не зависела от количества сеансов. В этом случае отклик на сумму воздействий, сводился к достоверному смещению всех значений СД-як/днф в диапазон на 22-30% ($0,019 \leq p \leq 0,045$) ниже по сравнению с контролем в исследованные периоды вибрационного воздействия. Однако, тормозящее влияние ДНФ на сукцинатное дыхание не наблюдали.

Таким образом, способность экзогенных энергетических субстратов регулировать функциональную активность Мх КМЦ снижалась по мере ужесточения режимов вибрации: повышения частоты и длительности воздействия. Регулирующее действие NAD- и FAD-зависимых экзогенных субстратов и чувствительность соответствующих звеньев ДЦ к разобщителю характеризовалось разной устойчивостью к вибрационным факторам.

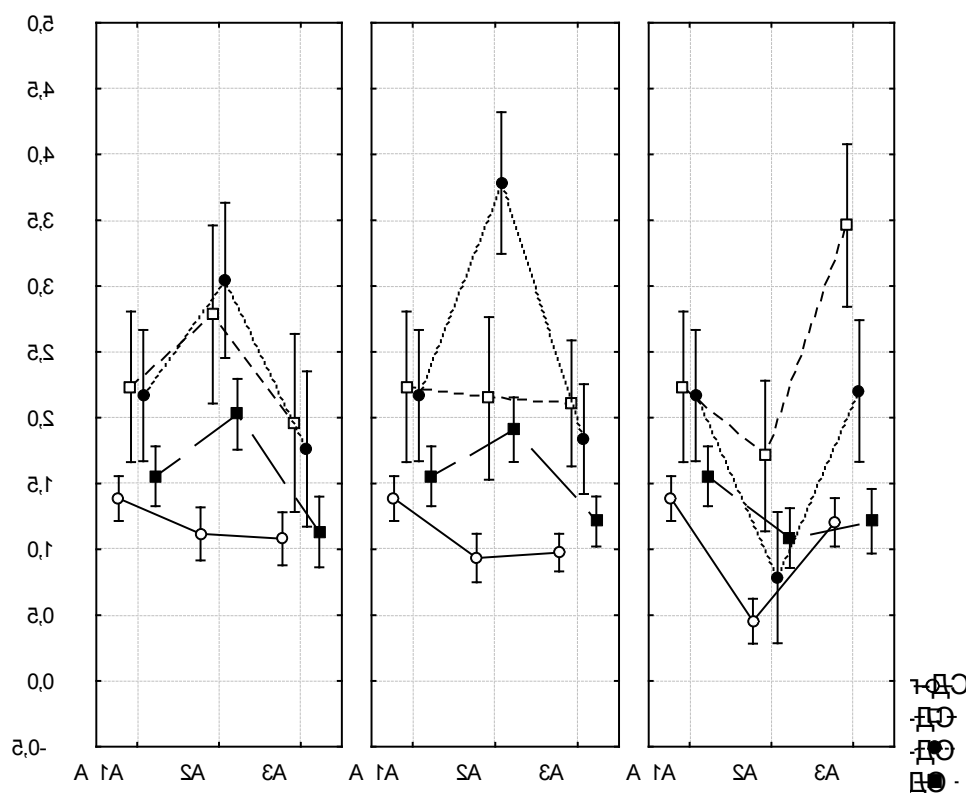


Рис.3. Изменчивость параметров регуляции функциональной активности Мх КМЦ кроликов при взаимодействии факторов вибрации на разных уровнях варьирования. Обозначения, как на рис.1-2.

Стимуляция эндогенного дыхания NAD-зависимым субстратом уменьшалась под воздействием частотного фактора до признаков явного угнетения ($СД-глу < 1,0$). При некоторых режимах вибрации (7-21 сеанс при 8 Гц) на фоне такого угнетения разобщитель дополнительно стимулировал окисление данного субстрата. Поведение систем энергопродукции по совокупности данных можно было расценивать как повышение уровня энергетической регуляции работы участка ДЦ, ответственного за окисление NAD-зависимых субстратов, связанное с накоплением богатых энергией соединений (формула: снижение скорости дыхания – увеличение сопряженности окисления-фосфорилирования). В этом случае интерпретация состояния систем энергопродукции миокарда укладывалась в классическую схему классификации митохондриальной дисфункции как I фаза биоэнергетической гипоксии [5]. Следует отметить, что эффект низкой частоты проявлялся на уровне NAD-зависимого субстрата в большей мере, чем высокой частоты. При длительном воздействии низкой частоты эффекты торможения дыхания сочетались с разобщением в ДЦ и угнетением регулирующих механизмов (формула: снижение скорости дыхания – разобщение окисления-фосфорилирования). При высокой частоте регулирующие показатели функциональной активности Мх в NAD-зависимом звене изменялись в меньшей мере, тем самым, демонстрируя меньшую адаптивную пластичность по отношению к внешнему фактору.

Регулирующее действие FAD-зависимого субстрата *in vitro* оказалось более устойчивым к действию частотного фактора, независимо от его длительности, поскольку как при суммации эффектов вибрации, так и при варьировании частоты стимуляция дыхания сукцинатом оставалась по-прежнему на высоком уровне ($СД-як \geq 2,0$).

Представленные результаты свидетельствовали об универсальном разобщающем (разрыхляющем) эффекте высокочастотной вибрации в отношении FAD- и NAD-зависимых участков ДЦ КМЦ, поскольку с повышением частоты вибрации признаки разобщения при окислении соответствующих субстратов усиливались.

Известно, что повышение $СД-днф$ указывает на усиление регуляции энергетических процессов в ДЦ, и, прежде всего - сопряженности окислительного фосфорилирования, а уменьшение - на разобщение окисления и фосфорилирования, снижение уровня высокоэнергетических интермедиатов, ослабление энергетической регуляции и на развитие низкоэнергетического сдвига [11-13]. Частотный фактор оказывал достоверное влияние на значения регуляторных показателей при окислении обоих типов субстратов в состоянии покоя и АТФ-азной нагрузки.

Представленные результаты по действию независимых факторов А и В свидетельствуют о том, что механизмы, регулирующие энергопродукцию в сукцинатзависимом звене ДЦ, более устойчивы к суммации повреждающих эффектов вибрации. Следует отметить проявление тенденции к гиперактивации СДГ наряду с уменьшением параметров сопряженности, т.е. начальный низкоэнергетический сдвиг на 56 сеанс вибрации (по формуле – СД растет, а сопряженность – падает).

Явления низкоэнергетического сдвига проявились при анализе резервных возможностей активности Мх КМЦ.

Максимальный резерв дыхания (МРД) относится к чувствительным разностным показателям, характеризующим резервный диапазон функциональной активности систем энергопродукции как разницу между дыханием Мх в состоянии покоя и максимальной их активностью в состоянии АТФ-азной нагрузки разобщителем. Согласно литературным данным, чем выше тренированность, адаптивный ресурс, тем выше МРД. И напротив, МРД резко сужается, может исчезать и даже достигать отрицательных значений при неблагоприятных воздействиях на организм, когда исчерпаны возможности приспособительных механизмов и развивается дезадаптация или патология [7,13].

Факторы общей вибрации оказывали существенное влияние также и на МРД в виде его снижения при окислении

NAD- и FAD- зависимых субстратов.

Максимальный резерв дыхания при окислении глутамата (рис.4) практически не зависел от частоты после 7 сеансов высокочастотной вибрации и мало изменялся через 21 и 56 сеансов. При низкочастотной вибрации значительное (на 58%, $p=0,044$), увеличение МРД происходило через 21 сеанс и полное истощение резервных возможностей ДЦ, окисляющей глутамат, (уменьшение до отрицательных значений, $p=0,00035$), наблюдали через 56 сеансов.

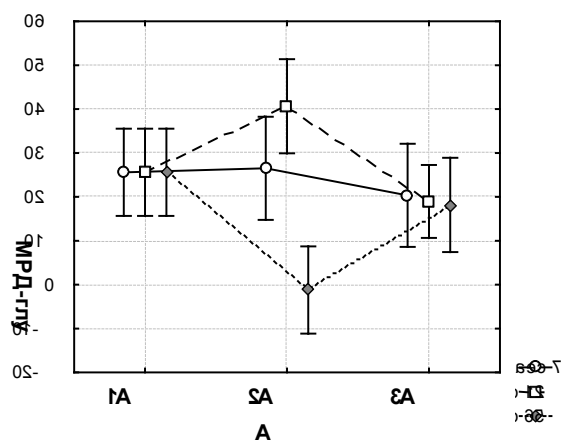


Рис.4. Изменчивость показателя МРД при окислении глутамата Мх КМЦ кроликов под воздействием факторов общей вибрации на разных уровнях варьирования.

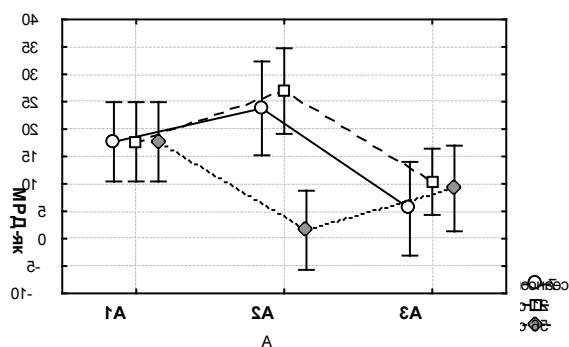


Рис.5. Влияние суммации эффектов вибрации на максимальный резерв дыхания Мх КМЦ кроликов при окислении экзогенного сукцината. Обозначения – как на рис.4.

Сходные результаты получили и в отношении сукцинатзависимой активности ДЦ Мх (рис.5), однако в изменчивости этого показателя проявлялся более очерченный характер и высокий уровень значимости, чем на глутамате. После 7 и 21 сеанса низкочастотной вибрации наблюдали существенное увеличение МРД-як на 36 и 53% ($p=0,047$ и $p=0,035$, соответственно).

Остальные сочетания факторов вибрации также приводили к достоверной ($p \leq 0,001$) и глубокой депрессии этого показателя вплоть до нулевых и отрицательных значений при низкочастотной вибрации в течение 56 сеансов.

По совокупности представленных результатов можно утверждать, что увеличение частоты и длительности вибрационного воздействия в эксперименте приводило к ослаблению энергетической регуляции и резервных возможностей функциональной активности Мх КМЦ кроликов.

Известно, что сдвиг Мх к энергодефициту представляет одну из составляющих неспецифической ответной реакции ткани на внешние воздействия и может использоваться как мера для оценки степени ее повреждения [3,4,13,16]. В интерпретации полученных результатов с регулируемыми показателями целесообразно учитывать сущность регулирующих эффектов субстратов и разобщителя, в понимании особенностей градаций разных метаболических состояний митохондрий. Регулирующее действие субстратов на дыхание митохондрий хорошо известно [3,4,7,12]. Под действием экзогенного субстрата Мх, окисляющие эндогенные субстраты медленно, переходят в состояние субстратного дыхания (состояние покоя- V4п). В этом случае дополнительно активизируются соответствующие конкретному добавленному экзогенному субстрату дегидрогеназы (оксидазы). В нашем случае – FAD-зависимая сукцинатдегидрогеназа (сукцинатоксидаза) – при окислении янтарной кислоты, и NADH-зависимая дегидрогеназа глутаминовой кислоты.

Скорость субстратного дыхания в Мх тканей интактных животных, как правило, выше, чем эндогенного. Стимуляция дыхания субстратом представляет результат нескольких процессов [12]:

- транспорта субстрата через Мх мембрану (определяется состоянием проницаемости мембраны);
- способности участка ДЦ, ответственного за окисление данного субстрата (включая всех участников процесса - переносчиков, коферментов, оксидов и др.) утилизировать данный субстрат;
- полноценности функционирования последующих участков ДЦ, содержащих переносчики электронов к кислороду.

Стимуляция субстратного дыхания разобщителем 2,4-динитрофенолом тем выше, чем прочнее сопряженность окисления-фосфорилирования, чем сильнее регуляция процессов окисления и преобразования энергии в ДЦ в разные конвертированные формы. На исходно разобщенных или слабо сопряженных препаратах Мх стимулирующее действие 2,4-ДНФ не только не проявляется, а даже может сменяться торможением дыхания. Это происходит вследствие «разрыхления» структурно-функциональной организации ДЦ и о глубоких нарушениях процессов переноса электронов, синтеза АТФ и других видов трансформации энергии субстратного окисления.

В дополнение к перечисленным явлениям величина стимуляции дыхания 2,4-ДНФ зависит:

- от состояния факторов сопряжения в Мх-мембране;
- от электронпереносящей активности фермент-субстратных комплексов дыхательной цепи;

Все эти процессы находятся под контролем митохондриальных, внутриклеточных и внеклеточных (тканевых) факторов регуляции.

Согласно полученным данным показатели регуляции Мх функций не только направленно и значимо откликались на внешнее воздействие вибрации, прилаемое к целостному организму, но и в значительной мере определялись количественными характеристиками факторов и адекватно могли быть описаны уравнениями регрессии первого и второго порядка. В реализации откликов на уровне систем энергопродукции равноправно и в полной мере, наряду с внутримитохондриальными, участвуют немитохондриальные клеточные и внеклеточные механизмы регуляции, включившиеся в системы интегративных гомеостатических связей под действием факторов *in vivo*. Это мы видим по высокому уровню значимости межгрупповых различий между контрольными животными и животными, подвергнутыми разным режимам общей вибрации. Вполне отчетливо просматривается зависимость величины и направленности «отклика» регуляторного параметра от суммы внешнего воздействия, преломленного через систему энергопродукции КМЦ.

В данном исследовании сочетания независимых факторов вибрации (частоты, длительности) оказывали выраженное дизрегуляторное воздействие в системе регуляции энергопродукции КМЦ и, возможно, опосредовали вибрационно-обусловленную патологию миокарда. Для подтверждения этого в дальнейшем потребуются сопоставление специфики проявлений эффектов вибрации на уровне функционирования систем энергопродукции и связанной с этим изменчивости морфологической структуры КМЦ.

Таким образом, воздействие вибрации на целостный организм как бы «преломлялось» через «призму» изменчивости регуляции функциональной активности Мх в разных метаболических состояниях – покоя и АТФ-азной нагрузки. По мере ужесточения режимов вибрации, ее эффекты суммировались на уровне систем энергопродукции, что приводило к развитию признаков снижения энергетической регуляции и уменьшению максимального резерва дыхания. Именно при длительной вибрации, кумуляция эффектов вызвала наиболее весомые отклонения абсолютных значений регуляторных параметров от уровня контрольных животных. Энергизирующее действие субстратов уменьшалось, причем на глутамате это проявлялось в большей мере. О поддержке адаптивной функции сукцинатзависимым звеном ДЦ свидетельствовали константность окисления ЯК в состоянии покоя, постоянство стимулирующего действия ЯК на эндогенное дыхание и относительная (по сравнению с NAD-зависимым звеном) стабильность уровня сопряженности окисления и фосфорилирования.

Если у контрольных животных или при небольшом числе сеансов вибрации сохранялся уровень оптимальной регуляции с максимальным приростом скорости активного состояния и высокими уровнями сопряженности и максимального резерва дыхания, то при длительной вибрации и ее высокой частоте развивался энергетический дефицит, о чем свидетельствовала депрессия параметров энергетической регуляции. Полученные результаты дают основания полагать, что фармакологическую защиту КМЦ от повреждающего и дизрегулирующего воздействия общей вибрации целесообразно адресовать системам энергопродукции – митохондриям миокарда для восстановления работы NAD-зависимого звена и повышения устойчивости FAD-зависимого.

Выводы:

1. Параметры энергетической регуляции Мх КМЦ являются функциями-откликами на воздействие независимых факторов общей вибрации. Связь факторов-причин и регулирующих параметров-откликов информативна, достоверна и имеет сложный нелинейный характер. Моделирование *in vitro* максимальной функциональной нагрузки на ДЦ КМЦ разобщителем при окислении FAD- и NAD-зависимых субстратов повышает информативность ответных реакций Мх на вибрационное воздействие, направленное на целостный организм.

2. Использование методов многомерной биометрии позволяет объективизировать информацию и количественно описывать взаимодействие факторов вибрации и механизмов, регулирующих деятельность систем энергопродукции

миокарда.

3. По мере ужесточения режимов вибрации происходит кумуляция эффектов на уровне механизмов энергетической регуляции функций Мх КМЦ. Развиваются признаки депрессии энергизации и уменьшаются резервные возможности ДЦ.

4. Механизмы регуляции, ответственные за FAD-зависимую энергопродукцию при окислении экзогенной янтарной кислоты, более устойчивы к вибрационному воздействию, чем регулирующие механизмы NAD-зависимого звена.

Список литературы:

1. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер, 2003.-688с.
2. Гоголева О.И. Вибрационная болезнь у рабочих угольных шахт (клинико-гомеостатические и терапевтические аспекты.// Автореф.дисс...д-ра.мед.наук.-Пермь.-2000.-39с.
3. Кондрашова М.Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях ткани.//Биохимия.-1991.-Т.56.-№3.-с.388-405.
4. Кондрашова М.Н., Григоренко Е.В., Бабский А.М., Хазанов В.А. Гомеостазирование физиологических функций на уровне митохондрий.// Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза. - Новосибирск.- 1987.- с.44-48.
5. Лукьянова Л.Д. Гипоксия при патологиях. Молекулярные механизмы и принципы коррекции.//Перфторорганические соединения в биологии и медицине. - Пушино.-2001.- с.56-70.
6. Лытаев С.А., Шангин А.Б. Физиологические механизмы действия на организм инфра- и низкочастотной вибрации.//Вестник новых медицинских технологий.-1999.-т.VI.-№2.-с.11-14.
7. Маевский Е.И., Кондрашова М.Н. Сукцинатная фракция дыхания – наиболее чувствительная характеристика митохондрий при небольших изменениях физиологического состояния организма.// Митохондриальные процессы во временной организации жизнедеятельности.- Пушино.- 1978.-с.24-32.
8. Мазина Н.К., Вознесенский Н.К., Заугольников В.С., Кудрявцев В.А., и др. К обоснованию модели биоэнергетической гипоксии печени при экспериментальной вибрации.//Вятский медицинский вестник.-2002.-№1.-с.58.
9. Мазина Н.К., Воробьева В.В. Влияние факторов вибрации на параметры эндогенного дыхания нативных митохондрий сердца кроликов. //Вятский медицинский вестник.- 2003.-№2.- с.25-31.
10. Миронова Т.Ф. Дизрегуляторные вегетативные расстройства кардиоваскулярной системы в клинике и патогенезе вибрационной болезни.// Автореф. Дис.докт.мед.наук.-Ленинград.-1990.-30с.
11. Мохова Е.Н., Хавкина И.В. Сравнение чувствительности к амиталу и к разобщителям дыхания кусочков печени на эндогенных субстратах, пирувате и НАД*Н.// Митохондрии. Регуляция процессов окисления и сопряжения. - М.:Наука.,1974.- с.71-75.
12. Николс Д.Д. Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию.//М.:Мир.-1985.- 190с.
13. Саакян И.Р. Энергетические состояния митохондрий в патогенезе сердечной недостаточности и ее метаболическая коррекция. Клинико-экспериментальное исследование. Автореф. Дис...докт.мед. наук.-Ереван.-1990.-40с.
14. Суворов Г.А., Старожук И.А.,Тарасова Л.А. Общая вибрация и вибрационная болезнь.//М.:Медицина.-2000.-152с.
15. Сухаревская Т.М.,Ефремов А.В., Непомнящих Г.И., Лосева М.И., Потеряева Е.Л. Микроангио- и висцеропатии при вибрационной болезни. – Новосибирск.- 2000.-238с.
16. Хватова Е.М., Швеиц Н.А. Регуляторная роль субстрата окисления в условиях изменяющейся сопряженности окислительного фосфорилирования в митохондриях разных тканей. // Митохондрии. Биохимические функции в системе клеточных органелл.-М.:Наука.- 1969.-с.236-242.
17. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований.//Санкт-Петербург.-2002.-268с.
18. Estabrook R.W. Mitochondrial Respiratory Control and the Polarographic Measurement of ADF:O Ratios.//Methods in Enzymology. N-Y., Acad.Press,- 1967.-vol.10.-p.41-47.
19. Letko G., Kustner U., Bohnensack R., Bohme G., Pohl K., Kunz W. Interrelationship between oxidative energy transformation and energy consumption at mitochondrial and cellular levels. //Acta boil. Medi. Germ. –Band 41.-1982- Heft 9.- Seite 735-750.