

УДК 577.24

# 50 лет изучения протонофоров: разобшение митохондрий как основа терапевтического действия

Е. А. Котова, Ю. Н. Антоненко\*

НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

\*E-mail: antonen@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию 19.10.2021

Принята к печати 21.12.2021

DOI: 10.32607/actanaturae.11610

**РЕФЕРАТ** Протонофоры – соединения, осуществляющие электрогенный перенос ионов водорода через мембраны, – активно изучаются в течение последних 50 лет в связи со способностью разобщать перенос электронов и синтез АТФ в митохондриях и хлоропластах. Считается, что в основе действия на митохондрии таких классических разобщителей, как DNP и CCCP, лежит их протонофорная активность, т.е. способность переносить протоны через липидную часть митохондриальной мембраны. Учитывая недавно выявленные отклонения от корреляции протонофорной активности ряда разобщителей на искусственных липидных мембранах с их способностью стимулировать дыхание митохондрий, в настоящем обзоре рассмотрена возможность вовлечения некоторых белков внутренней мембраны митохондрий, таких, например, как АТФ/АДР-антипортер, дикарбоксилатный переносчик, АТФ-аза, в процесс разобщения. Важно подчеркнуть, однако, что эти отклонения не противоречат теории Митчелла, а свидетельствуют о более сложном характере взаимодействия DNP, CCCP и других разобщителей с мембранами митохондрий. Сделан вывод о важности детального изучения механизма работы разобщителей для их более успешного фармакологического применения, связанного как с их антибактериальным (включая противотуберкулезное) и противоопухолевым, так и кардио-, нейро-, и нефропротекторным действием.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** разобщители окислительного фосфорилирования, митохондрии, транспорт протонов, биоэнергетика.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** DNP – 2,4-динитрофенол; CCCP – карбонилцианид-*m*-хлорфенилгидразон; БЛМ – бислойная липидная мембрана; P-vs-U-корреляция – корреляция разобщающей активности различных соединений на митохондриях и протонофорной активности на бислойной липидной мембране; Катр – карбоксиатрактилозид; mitoFluo – конъюгат флуоресцеина и трифенилфосфония.

## ВВЕДЕНИЕ

Впервые термин протонофор (protonophore) был использован в обзоре Скулачева, опубликованном в 1970 году [1], однако открыты протонофоры были несколькими годами ранее в лабораториях Ленинджера (1966 г. [2]), Скулачева [3] и Либермана [4]. В этих работах показано, что некоторые вещества, ранее идентифицированные как разобщители окислительного фосфорилирования в митохондриях, увеличивают протонную проводимость липидных мембран. Такое наблюдение находилось в согласии с теорией Митчелла о сопряжении окисления и фосфорилирования в митохондриях посредством образования разности электрохимических потенциалов ионов водорода [5]. В случае мембран митохондрий сам Митчелл в 1967 году наблюдал перенос протонов некоторыми разобщителями [6].

Как уже упомянуто, термин протонофор был предложен в 1970 году [1]; до этого разобщители называли proton conductors, или  $H^+$  carriers [2]. Было бы несправедливым не упомянуть работу 1967 года [7] об увеличении протонной проводимости липосом под действием разобщителей, однако эта работа не имела такого резонанса, как публикация в журнале Nature [3]. Приоритет группы Скулачева в открытии протонофоров закреплен также публикацией в журнале Nature 1969 года [8], где прослеживалась количественная корреляция между протонофорной активностью на липидных мембранах (плоских бислоях, БЛМ) и стимуляцией дыхания митохондрий в состоянии 4 (P-vs-U-корреляция) большого ряда разобщающих соединений различной химической природы. Эта работа 1969 года [8] на настоящий момент считается классической. Следует

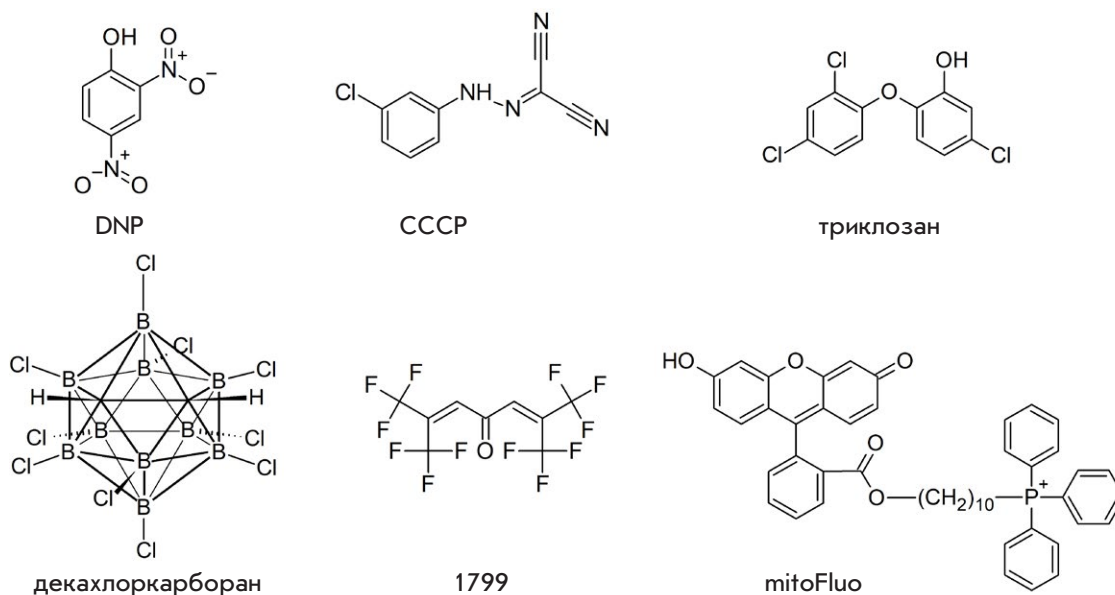
сказать, что термин ионофор (ionophore), обозначающий вещество, переносящее ионы через мембраны, появился раньше и активно использовался в работах Прессмана с середины 60-х годов прошлого века [9]. Однако Прессман сосредоточился на транспорте ионов металлов и не употреблял термин протонофор. В описываемое время в русскоязычных статьях часто использовали термин мембраноактивный комплексон [10], позднее вытесненный термином ионофор.

Перечисленные работы вызвали взрыв интереса к протонофорам и вместе с последующими работами внесли весомый вклад в доказательство хемиосмотической теории Митчелла. Следует сказать, что P-vs-U-корреляция была сразу оспорена работами другой группы [11], в которых зарегистрированы значительные отклонения от нее при использовании другого набора соединений. Противоречий добавили и Ваккер и соавт., которые показали, что P-vs-U-корреляция намного лучше соблюдается на липосомах, чем на плоских БЛМ [12]. Однако в 1980 году вышел основополагающий обзор [13], авторы которого отстаивали существование хорошей P-vs-U-корреляции, а некоторые противоречия приписывали особенностям физико-химических свойств использованных соединений. Поскольку к тому времени хемиосмотическая теория уже считалась доказанной, вопрос потерял свою актуальность и был практически закрыт, несмотря на то, что к тому моменту уже накопилось достаточно данных, которые указывали на участие белков митохондрий

в действии разобщителей. Показано, в частности, что инкубация азидо-производного DNP (2-azido-4-nitrophenol, NPA) и азидо-производного СССР (2-nitro-4-azidocarbonylcyanide phenylhydrazone, N3ССР) с митохондриями в ответ на освещение приводит к ковалентному пришиванию этих соединений в первом случае к белку, входящему в АТФ-азный комплекс [14], а во втором – к неидентифицированному белку с другой молекулярной массой [15]. Существенно, что такая ковалентная модификация не затрагивала другие белки митохондрий. Однако в то время считалось, что подобные работы идут вразрез с практически доказанной хемиосмотической теорией Митчелла, поэтому им не уделялось достаточного внимания. Интересно, что несколько позже (90-е годы прошлого века) появились работы из лаборатории Скулачева, которые указывали на чувствительность эффекта DNP и СССР к ингибиторам, действующим либо через конкретные белки митохондрий, либо через неидентифицированные белки [16, 17].

### ПРОТОНОФОРЫ И ЛИПИДНЫЕ МЕМБРАНЫ

Классические протонофоры представляют собой органические кислоты с рКа вблизи физиологических значений рН, имеющие обширную систему п-электронов, способных, как считается, делокализовать отрицательный заряд, который препятствует проникновению через гидрофобный слой мембраны (рис. 1). Это позволяет анионной форме протонофора (Т<sup>-</sup>) пересекать мембрану в ответ на приложе-



**Рис. 1.** Химические структуры типичных (верхний ряд) и нетипичных протонофоров (нижний ряд). DNP – 2,4-динитрофенол; СССР – карбонилцианид-м-хлорфенилгидразон; триклозан – 2-(2,4-дихлорфенокси)-3-хлорфенол; декахлоркарборан; 1799 –  $\alpha, \alpha'$ -бис[бис(трифторметил)метилена]ацетон; mitoFluo – конъюгат флуоресцеина и трифенилфосфония

ние потенциала, далее протонироваться (переходя в ТН-форму) и двигаться в противоположную сторону в нейтральной форме по градиенту концентрации. Завершает цикл стадия депротонирования ТН-формы. Помимо фенолов (DNP, пентахлорфенол и др.), среди первых протонифоров были изучены разные гидразоны (СССР, FCCP), бензимидазолы (ТТФВ и DTFB), дикумарол, а также салициловая кислота. Эти соединения, представляющие собой слабые ароматические кислоты, хорошо укладываются в общее представление о структуре протонифоров, описанное выше. Однако уже среди первых протестированных разобщителей имелись «экзотические» примеры, такие, как декахлоркарборан [18] и соединение 1799 ( $\alpha, \alpha'$ -bis(hexafluoroacetyl)-acetone) [11]. Эти соединения, строго говоря, не являются ароматическими, более того, их способность депротонироваться в водной среде также вызывает большие вопросы. Более поздние работы выявили катионные протонифоры [19–21] и цвиттер-ионные протонифоры [22–24].

### ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРОТОНИФОРОВ С БЕЛКАМИ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ

С момента появления первых работ по протонифорам прошло около 50 лет, за это время найдено много разнообразных новых низкомолекулярных соединений, которые обладали свойствами разобщителей. Многие из них рассмотрены в обзоре [25], хотя этот список далеко не полный и его следовало бы существенно расширить. К сожалению, не все новые соединения протестированы в липидных системах (БЛМ или липосомах), еще меньшее число веществ охарактеризовано в одинаковых условиях. Однако большое количество данных позволяет существенно продвинуться в уточнении P-vs-U-корреляции по сравнению с первыми работами 70-х годов прошлого века. Так, найдено несколько веществ, которые проявляли выраженное разобщающее действие на митохондриях и при этом практически не обладали протонифорными свойствами на липидных мембранах. Самыми известными среди них и к тому же физиологически важными являются жирные кислоты. Важно подчеркнуть, что жирные кислоты вызывают увеличение протонной проницаемости мембран митохондрий [26, 27]. При этом они обладают лишь очень слабой способностью увеличивать проводимость плоских БЛМ: заметные токи обнаружены лишь на мембранах, сформированных из липосом [28] по методу Монтала [29]. В дальнейшем было показано, что жирные кислоты способны взаимодействовать с ADP/ATP-антипортером [16, 30–32], а также с другими транспортными белками семейства SLC25 [33], что приводит к катализу

переноса аниона жирной кислоты через мембрану митохондрий. Разобщающими свойствами обладают многие противовоспалительные препараты [34] и ряд других соединений [35]. Таким образом, ставшая классической P-vs-U-зависимость может быть заметно расширена. С другой стороны, на современном этапе можно сделать вывод о том, что наблюдаемая корреляция протонифорной активности на БЛМ и митохондриях оказывается довольно слабой и вряд ли противоречит участию белков в протонифорном действии на митохондриях. На рис. 2 данная корреляция представлена согласно [8], с добавлением в качестве примера нескольких веществ, которые показывают, насколько велики могут быть отклонения от канонической P-vs-U-зависимости (красные стрелки).

К соединениям, эффективно разобщающим митохондрии, но практически не увеличивающим протонной проводимости БЛМ, можно также отнести недавно синтезированный конъюгат флуоресцеина и трифенилфосфония, названный mitoFluo [22]. mitoFluo обладает очень слабыми протонифорными свойствами на БЛМ, что ожидаемо, поскольку

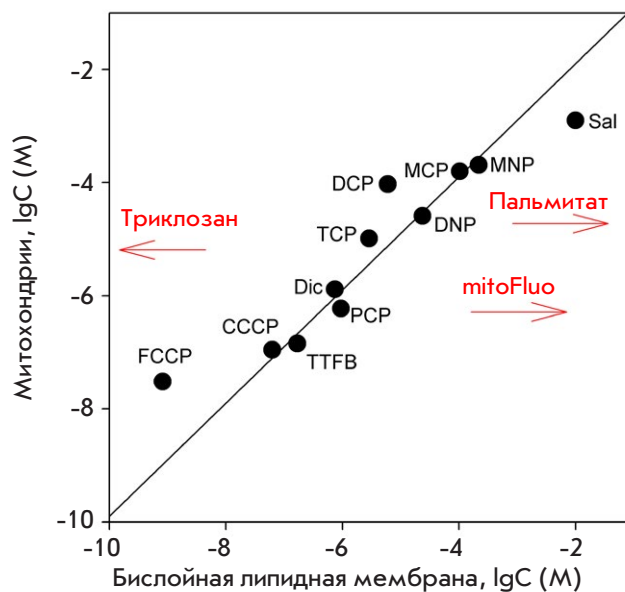


Рис. 2. Корреляция разобщающей активности различных соединений на митохондриях и протонифорной активности на бислоистой липидной мембране (БЛМ), полученная в работе [8]. По оси ординат отложены концентрации, которые стимулировали в 2 раза дыхание митохондрий печени крысы в присутствии сукцината как субстрата, по оси абсцисс – концентрации, стимулирующие проводимость БЛМ до уровня  $5 \times 10^{-9} \text{ Ом}^{-1} \text{ см}^{-2}$ . Красными стрелками указаны уровни эффективных концентраций пальмитата, mitoFluo и триклозана согласно результатам работ [22, 40, 57]

он может быть либо катионом, либо цвиттер-ионом. Катионы гораздо хуже анионов проникают через БЛМ из-за наличия дипольного потенциала, обусловленного слоем диполей на поверхности раздела мембрана–вода [36–38]. Цвиттер-ионы несут, помимо положительного, еще и отрицательный заряд на молекуле, что должно дополнительно снижать их проницаемость. Для регистрации тока БЛМ, индуцированного mitoFluo, пришлось использовать специальные синтетические липиды, которые имеют не сложноэфирные связи с углеводородными остатками, а простые эфирные связи. Ранее было показано, что у таких липидов резко снижен дипольный потенциал мембраны [39]. Но даже на БЛМ, сформированной из такого липида, при pH 7 mitoFluo не вызывал тока протонов, который появлялся лишь при снижении pH и достигал максимума при pH 3 [22]. При этом mitoFluo, действующий как эффективный разобщитель на митохондриях, работает в субмикромольных концентрациях. На другом полюсе веществ, выпадающих из P-vs-U-корреляции, находится триклозан (2,2,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether, *рис. 2*, левая красная стрелка). В отличие от жирных кислот или mitoFluo, триклозан является мощным протонофором на БЛМ (его действующие концентрации значительно меньше по сравнению с СССР) [40]. В то же время триклозан – слабый разобщитель на митохондриях, и для стимуляции дыхания митохондрий требуются десятки микромолей этого вещества [41]. Триклозан широко используется в качестве противомикробного препарата и добавляется в различные косметические средства. Его крайне слабая токсичность по отношению к клеткам животных связана с его слабым действием на мембрану митохондрий. Структура триклозана предполагает, что он представляет собой обычный анионный разобщитель фенольного ряда с  $pK_a = 7.9$  [42].

Как упоминалось выше, отклонения от P-vs-U-корреляции традиционно объясняют взаимодействием разобщителей с белками внутренней мембраны митохондрий, которые могут приводить к усилению переноса ионов водорода в результате ускорения переноса анионной формы протонофора через липидную часть мембраны [17, 35]. Эту концепцию хорошо иллюстрирует индукция протонной проводимости в мембране митохондрий жирными кислотами, которая значительно подавляется при добавлении карбоксиатрактилозида (Катр), специфического ингибитора транслокатора адениновых нуклеотидов в митохондриях [16, 31]. Предполагается, что анионы жирных кислот способны взаимодействовать с местом посадки АТФ и/или АДФ и таким образом переноситься через мем-

брану. Высокая проницаемость липидной мембраны для протонированной формы жирных кислот [43] позволяет им осуществлять цикл переноса протона. Помимо жирных кислот, Катр, хотя и в меньшей степени, ингибирует разобщающее действие DNP на митохондриях [16, 44]. Эти данные позволяют предположить, что анион DNP тоже может взаимодействовать с местом связывания жирных кислот на АДФ/АТФ-транслокаторе. Недавно показали, что взаимодействие DNP с выделенным и реконструированным транслокатором блокируется при замене аргинина 79 на серин в этом белке [44].

Собственно активное взаимодействие разобщителей с протонными помпами было известно еще до работ конца 60-х - начала 70-х годов, поскольку у всех известных на тот момент разобщителей обнаруживалась колоколообразная зависимость скорости дыхания митохондрий или субмитохондриальных частиц (СМЧ) от их концентрации, т.е. вслед за стимуляцией дыхания при низких концентрациях всегда наблюдалось его ингибирование при больших концентрациях разобщителей [45, 46]. Это явление касается субстратов всех основных дыхательных комплексов митохондрий. В дальнейшем были уточнены сайты и характер этого взаимодействия. Так, в случае первого комплекса это взаимодействие хорошо коррелирует с гидрофобностью соединений, что было объяснено существованием гидрофобной площадки в белке, служащей местом связывания убихинона [47]. В случае сукцинатдегидрогеназы наиболее активным местом связывания разобщителей является терминальный участок цепи, при этом сродство, скажем, к пентахлорфенолу здесь может достигать 2 мкМ [48]. Показано также, что цитохромоксидаза имеет сайт связывания СССР [49], при взаимодействии с которым резко меняется сродство белка к кислороду [50]. Интересно, что метилирование протонируемой группы в разобщителях подавляет не только их разобщающее, но и ингибирующее действие [45, 51]. Этот важный факт до сих пор не нашел своего объяснения, он указывает на тесную связь ингибирующего действия с механизмом собственно разобщения. Следует сказать, однако, что некоторые разобщители характеризуются необычно широким колоколом по концентрации [22, 52].

В рамках такой концепции отклонение триклозана от P-vs-U-корреляции в другую сторону, по сравнению с жирными кислотами, обусловлено тем, что основная часть протонофоров использует те или иные белки при индукции протонной проводимости на мембранах митохондрий. Поскольку триклозан индуцирует ток БЛМ большей величины, чем СССР, и при этом на митохондриях он не рабо-

тает в тех концентрациях, при которых работает СССР, то следует предположить, что и СССР индуцирует ток протонов на митохондриях через какой-то белок. В пользу такого предположения говорят прямые опыты по взаимодействию азидо-производного СССР с белками митохондрий [15]. В недавней работе нашей лаборатории показано, что трифенилфосфониевый конъюгат СССР, который сам не разобщает митохондрии, способен блокировать разобщающее действие СССР [53]. В пользу участия белка в разобщающей активности СССР свидетельствует также сильное ингибирование действия СССР на митохондриях под влиянием 6-кетохлестанола, который способен, напротив, усиливать вызванный СССР протонный ток на БЛМ в силу увеличения дипольного потенциала мембран [54]. Таким образом, мы приходим к выводу, что в случае имеющихся традиционных разобщителей P-vs-U-корреляция не связана с тем, что разобщители окислительного фосфорилирования являются протонофорами как таковыми (т.е. переносчиками протонов через липидную часть мембраны митохондрий). По-видимому, это обусловлено силой взаимодействия большинства этих веществ с некоторым белком (белками) митохондрий.

Следует также упомянуть, что P-vs-U-корреляция явно нарушается в ряду гомологов некоторых разобщителей. Так, в нашей лаборатории показано, что как на плоских БЛМ, так и в липосомах протонофорная активность разобщителей на основе популярного флуоресцентного красителя 7-нитробенз-2-окса-1,3-диазола (NBD), имеющих алкильный заместитель, увеличивается по мере роста длины алкильной цепи [55]. В митохондриях же разобщающая активность достигает максимума в случае октильного заместителя, и децильное производное разобщает митохондрии существенно слабее октильного [55]. Аналогичным образом в ряду алкилродаминов (CnR1) наблюдается возрастание протонофорной активности в липосомах [56] и на БЛМ с ростом длины алкильной цепи, в то время как максимальное разобщение в митохондриях вызывает C4R1 [21]. Наличие оптимальной длины алкильной цепи также говорит о возможном участии сайтов связывания на белках митохондрий при индукции протонной утечки. В этой связи уместно упомянуть, что разобщение жирными кислотами также имеет оптимум по длине жирной кислоты, где в случае насыщенных жирных кислот максимальное разобщение вызывает пальмитиновая кислота, а более длинные кислоты работают слабее [57]. В недавней работе из лаборатории Самарцева показано, что  $\alpha,\omega$ -гексадецилдикарбоновая кислота стимулирует дыхание митохондрий, не вызывая

при этом индукции протонной проводимости мембраны митохондрий [58]. Этот новый феномен еще требует своего изучения и осмысления.

Таким образом, на современном этапе можно сделать вывод о достаточно плохой P-vs-U-корреляции, построенной с использованием большого количества новых разобщителей, открытых и изученных с момента появления первых работ в этой области. Однако нужно подчеркнуть, что сама теория Митчелла, во многом принятая научным сообществом благодаря P-vs-U-корреляции, не может подвергаться сомнению на данном основании. Дело в том, что теория Митчелла доказана многими прямыми экспериментами, такими, как измерение генерации электрических потенциалов протонными помпами [59] или обнаружение синтеза АТФ в системе липосом с реконструированным бактериородопсином и АТФ-синтазой [60]. Кроме того, нет сомнений, что разобщающее действие каналоформера грамицидина А осуществляется через образование протонного канала и индукции протонной утечки во внутренней мембране митохондрий. Согласно теории Митчелла, важна не P-vs-U-корреляция, а корреляция между разобщением митохондрий (т.е. стимуляцией дыхания и гидролиза АТФ) и протонофорной активностью разобщителей, измеренной непосредственно на митохондриях [61]. Для теории Митчелла неважно, индуцирует ли разобщитель ток протонов на митохондриальной мембране сам по себе через липидные части мембраны, или он делает это с помощью какого-то митохондриального белка. Утечку протонов в митохондриальной мембране можно измерять в деэнергизованных условиях по набуханию митохондрий в среде с ацетатом калия в присутствии валиномицина или с нитратом аммония без валиномицина [26]. Этим методом показано, что жирные кислоты индуцируют протонную проводимость внутренней митохондриальной мембраны в тех же концентрациях, при которых они стимулируют дыхание митохондрий [26]. Таким образом, несмотря на то, что жирные кислоты выпадают из P-vs-U-корреляции, индукция ими протонной проводимости на митохондриях только подтверждает силу теории Митчелла.

Отдельный вопрос – есть ли «честный» протонофор, который работает на митохондриях без участия белков? Как описано выше, вряд ли такими протонофорами можно считать наиболее популярные разобщители DNP и СССР. На такую роль может претендовать грамицидин А, однако помимо протона он транспортирует ионы калия и натрия, что делает его очень токсичным для клеток. Возможно, на такую роль может претендовать триклозан, который является чрезвычайно актив-

ным протонифором на БЛМ, превосходя как СССР, так и SF6847 – самый мощный из известных разобщителей [40]. Однако триклозан вызывает стимуляцию дыхания митохондрий и их набухание в среде с ацетатом калия (в присутствии валиномицина) лишь в концентрации 3–10 мкМ. В результате триклозан сильно выпадает из P-vs-U-корреляции (рис. 2, красная стрелка слева). Согласно [40], причиной этого отклонения от P-vs-U-корреляции может быть высокая гидрофобность триклозана, которая мешает ему преодолевать внешнюю мембрану митохондрий. Возможно, однако, что даже эта слабая разобщающая активность все же обусловлена взаимодействием триклозана с каким-то белком. В этой связи следует упомянуть, что триклозан взаимодействует с NADH-дегидрогеназой митохондрий и ингибирует ее при более высоких концентрациях (30–100 мкМ) [41].

### ПРОТОНОФОРЫ И ПРОТОННЫЕ ПМПЫ

Выше уже рассмотрен механизм взаимодействия DNP с ATP/ADP-транслокатером, который, как показано, вносит вклад в разобщающее действие DNP на митохондриях [44]. Отметим, что согласно нашим данным транслокатор участвует и в разобщающем действии нового популярного разобщителя BAM15 [62]. Однако нам представляется, что существует и универсальный механизм взаимодействия разобщителей с митохондриями. И этот универсальный механизм отличается от прямого переноса протона через липидную часть мембраны. Можно предложить следующий механизм действия разобщителей, который, с одной стороны, включает способность к переносу протонов через липидную часть мембраны, а с другой, в явном виде требует их взаимодействия с протонными помпами. Этот механизм можно образно охарактеризовать как захват («подворовывание») протонов из каналов протонных помп (нижняя схема на рис. 3). Как известно, все протонные помпы имеют протонные каналы, которые выстланы соответствующими аминокислотами, чтобы оградить протон от утечки в водную фазу. Но природе не требовалось ограждать протонные пути от утечки в липидную фазу, поскольку гидратированный протон очень гидрофилен и существует огромный энергетический барьер для его перехода в липидную фазу. Поэтому можно предположить, что некоторые каналы протонных помп (а может быть, и большинство таких каналов) не имеют полной изоляции от утечки протонов в гидрофобном слое мембраны. Поскольку протонифоры – это липофильные кислоты, то они могут перехватывать протоны, которые откачиваются из матрикса митохондрий при переносе электронов по дыхательной

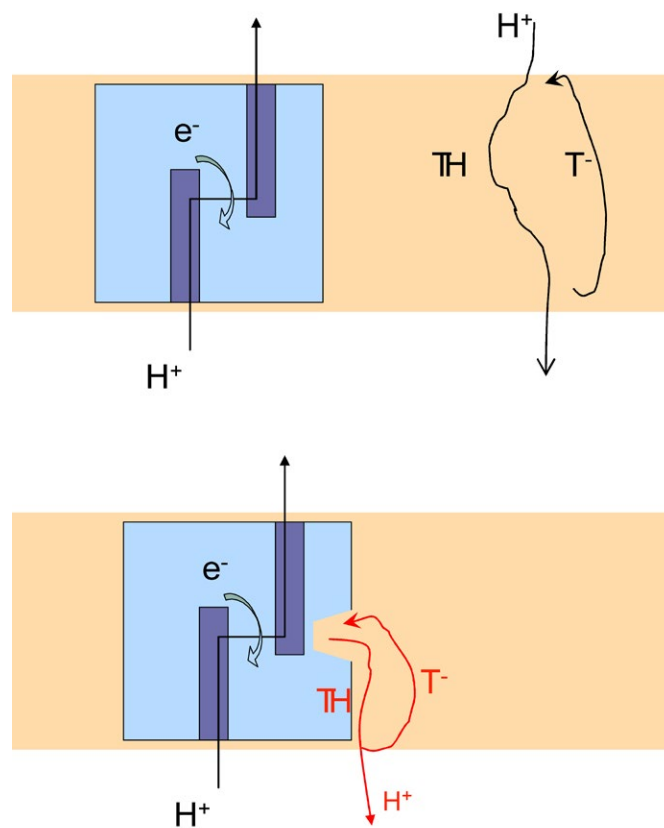


Рис. 3. Схема классического протонифорного действия анионного разобщителя Т (схема сверху) и варианта разобщающего действия, связанного с прямым взаимодействием Т с протонным каналом протонной помпы (нижняя схема). Протонифор Т переносит протоны в виде протонированного комплекса ТН и возвращается через цикл депротонирования до аниона Т

цепи, и возвращать их в матрикс еще до их попадания в межмембранное пространство. Тем самым вызывается abortивный цикл протонов, аналогичный классическому разобщению. Такое представление смыкается с ранее предложенным механизмом протонных утечек (slips) при работе протонных помп [63], который обсуждался в связи с нарушениями целостности мембраны при добавлении органических растворителей и других грубых воздействиях. Кроме того, подобное представление делает понятным подавление работы протонных помп при высоких концентрациях разобщителей, поскольку взаимодействие с протонным каналом митохондриальной помпы при повышении концентрации может приводить к полному блокированию этого канала, тем самым вызывая ингибирование работы фермента. Поскольку структуры большинства протонных помп митохондрий к настоящему моменту уже установлены, гипотезу о механизме разобщения митохондрий можно проверить с помощью анализа

методами биоинформатики. Дальнейшая работа покажет обоснованность этой гипотезы.

### **ПРОТОНОФОРЫ И МЯГКОЕ РАЗОБЩЕНИЕ**

Несмотря на то что сам термин протонофор определен достаточно ясно (протонофор способен электрогенно переносить катион водорода через гидрофобную фазу), употребление этого термина в контексте митохондрий на практике сталкивается с определенными сложностями при его сочетании с термином разобщитель (*uncoupler*). Например, называть ли индукцию утечек под действием детергентов [64–66] или органических растворителей [63] протонофорным действием? Формально в этом случае индуцируется также утечка по протону, но поскольку появляются утечки и по другим ионам, то называть это протонофорным эффектом вряд ли оправдано. Более сложен вопрос о том, являются ли протонофорами такие проникающие органические катионы, накапливающиеся в митохондриях, как *mitoQ* и *SkQ*. Показано, что эти катионы способны транспортировать анионы жирных кислот через мембраны и служить индукторами протонной проводимости мембран в присутствии жирных кислот, которые обычно содержатся в клетках [67]. Уже опубликованы статьи, в которых термин протонофор применяется к *mitoQ* [25] и *SkQ* [68]. Однако эти катионы не способны транспортировать ионы водорода через мембраны, поэтому нам кажется, что применение к ним термина протонофор недостаточно оправдано. С другой стороны, наверное, есть определенные основания называть их разобщителями.

Другое достаточно противоречивое понятие, связанное с применением разобщителей, – термин «мягкое разобщение». Этот термин предложен Скулачевым [17] и Старковым [69] для обозначения состояния митохондрий, которое характеризуется сниженным уровнем мембранного потенциала, сниженным уровнем генерации активных форм кислорода (АФК), небольшой стимуляцией дыхания и сохраняющейся высокой активностью АТФ-синтазы. Такое состояние может вызываться механизмами, присущими самим митохондриям (разобщением эндогенными жирными кислотами или функционированием белков семейства *UCP*), или добавлением небольшой концентрации разобщителей. Термин мягкое разобщение введен в связи с обнаруженной нелинейной зависимостью генерации АФК от мембранного потенциала митохондрий [70]. Хотя само понятие мягкого разобщения не было количественно определено, оно может считаться оправданным в связи с многочисленными примерами терапевтического действия низких концентраций разобщите-

лей в физиологических моделях различных патологических состояний [71]. Мы остановимся более подробно на этом вопросе при обсуждении терапевтического действия разобщителей.

### **ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРОТОНОФОРОВ**

История изучения протонофоров насчитывает уже более 50 лет. В заключение нашего краткого обзора хотелось бы остановиться на практическом применении протонофоров. Начать тут следует с истории DNP, который в 30-х годах прошлого века активно применяли в качестве средства от ожирения [72]. Этот препарат отпускался без рецепта и его использовали более 100000 человек, но в 1938 году он был запрещен из-за выявленных побочных эффектов, связанных с гепатотоксичностью и проблемами со зрением. Интересно, что сейчас вновь вырос интерес к DNP [73] в связи с появлением более сложных форм DNP в виде простого этилового эфира [74], которые превращаются в DNP преимущественно в печени, либо в виде комплексов DNP с наночастицами [75]. Эти препараты проявляли сильное антидиабетическое действие на крысах, а также были эффективны при неалкогольной жировой болезни печени. Более успешна клиническая судьба протонофоров, которые используются в качестве антигельминтных препаратов. Речь идет о салициланилидах, таких, как никлозамид. Механизм действия этих препаратов определен именно как разобщение окислительного фосфорилирования в клетках червей [76, 77]. При этом они слабо воздействуют на организм человека, поскольку плохо всасываются в желудочно-кишечном тракте. Давно установлено, что многие протонофоры обладают и противомикробным действием [78]. Однако их общая токсичность препятствовала их использованию в качестве антибиотиков. Тем не менее, такие сильные протонофоры, как триклозан, усниновая кислота [51], никлозамид [79] и пирроломидин [80] проявляют лишь умеренное токсическое действие на эукариотические клетки при очень сильном антимикробном эффекте. Некоторые противотуберкулезные препараты также обладают протонофорным действием [81–83]; противотуберкулезным действием обладает и усниновая кислота, т.е. в целом можно сказать, что протонофоры сохраняют актуальность для фармакологии, а в некоторых областях их потенциал даже растет.

Можно упомянуть также широко используемое инсектицидное, гербицидное (пестицидное) и фунгицидное действие протонофоров, аналогов динитрофенола, таких, как пентахлорфенол [84] и 6-изобутил-2,4-динитрофенол (диносеб) [85], а также флуазинам [86, 87] и другие соединения. Речь идет о достаточно большом производстве и рын-

ке для сельского хозяйства и лесной промышленности (как консервантов дерева). Однако в рамках нашего обзора нам ближе не промышленное применение протонофоров, а их потенциальное значение для фармакологии. За долгую историю изучения протонофоров накопилось много данных, полученных на моделях патологий животных, об их протекторных свойствах: они являются кардиопротекторами [88], нейропротекторами [73, 89], нефропротекторами [90], радиопротекторами [91], обладают антидиабетическим действием [75, 92, 93], и этот список можно продолжить. Отмечают потенциал разобщителей как противоопухолевых препаратов [94]. Более того, низкие дозы DNP достоверно увеличивают продолжительность жизни крыс [95], дрожжей [96] и дрозофил [97]. Как упоминалось выше, такое протекторное действие обусловлено способностью разобщителей подавлять образование АФК в митохондриях, которое во многом определяется величиной мембранного потенциала [98]. Современные работы говорят о том, что снижение мембранного потенциала митохондрий в клетках под действием низких концентраций разобщителей способно запускать целый каскад изменений метаболизма клеток, что может приводить к таким последствиям, как увеличение митохондриальной массы в некото-

рых клетках [99, 100], активация митофагии [101], изменение соотношения гликолиза и окислительного фосфорилирования [102] и многим другим [89, 103]. На важную роль кальция и сАМР в перестройке метаболизма клеток указывают результаты многих работ [73, 100–103]. Gao и соавт. предлагают называть мягким разобщением такое состояние, при котором используемая доза разобщителя не приводит к снижению пролиферативного потенциала клеток, но заметно влияет на некоторые регуляторные каскады, такие, как STAT3 [104].

Таким образом, детальное изучение механизма действия протонофоров на митохондрии остается важной задачей, решение которой, вполне возможно, позволит перейти от опытов на животных к использованию препаратов на основе протонофоров в клинической практике не только как антигельминтных средств, но и в качестве лекарств, эффективных при различных распространенных и тяжелых заболеваниях. ●

*Работа поддержана грантом РНФ № 21-14-00062.*

*Мы благодарны академику В.П. Скулачеву и профессору Л.С. Ягужинскому за плодотворное обсуждение некоторых аспектов данного обзора.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Skulachev V.P. // FEBS Lett. 1970. V. 11. № 5. P. 301–308.
- Bielawski J., Thompson T.E., Lehninger A.L. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1966. V. 24. № 6. P. 948–954.
- Skulachev V.P., Sharaf A.A., Liberman E.A. // Nature. 1967. V. 216. № 5116. P. 718–719.
- Liberman E.A., Topali V.P. // Biochim. Biophys. Acta. 1968. V. 163. № 2. P. 125–136.
- Mitchell P. // Biol. Rev. 1966. V. 41. № 3. P. 445–502.
- Mitchell P., Moyle J. // Biochem. J. 1967. V. 104. № 2. P. 588–600.
- Chappell J.B., Haarhoff K.N. // Biochemistry of mitochondria / Eds Slater E.C., Kaniuga Z., Wojtczak L. New York: Academic Press, 1967. P. 75–91.
- Liberman E.A., Topaly V.P., Tsofina L.M., Jasaitis A.A., Skulachev V.P. // Nature. 1969. V. 222. № 5198. P. 1076–1078.
- Pressman B.C. // Federation Proc. 1968. V. 27. № 6. P. 1283–1288.
- Ovchinnikov Y.A., Ivanov V.T., Shkrob A.M. Membrane-active complexones. Amsterdam, New York: Elsevier, 1974.
- Ting H.P., Wilson D.F., Chance B. // Arch. Biochem. Biophys. 1970. V. 141. № 1. P. 141–146.
- Bakker E.P., van den Heuvel E.J., Wiechmann A.H., van Dam K. // Biochim. Biophys. Acta. 1973. V. 292. № 1. P. 78–87.
- McLaughlin S., Dilger J.P. // Physiol. Rev. 1980. V. 60. № 3. P. 825–863.
- Hatefi Y. // J. Supramol. Struct. 1975. V. 3. № 3. P. 201–213.
- Katre N.V., Wilson D.F. // Arch. Biochem. Biophys. 1978. V. 191. № 2. P. 647–656.
- Andreyev A.Y., Bondareva T.O., Dedukhova V.I., Mokhova E.N., Skulachev V.P., Volkov N.I. // FEBS Lett. 1988. V. 226. № 2. P. 265–269.
- Skulachev V.P. // Biochim. Biophys. Acta. 1998. V. 1363. № 2. P. 100–124.
- Liberman E.A., Topaly V.P., Silberstein A.Y. // Biochim. Biophys. Acta. 1970. V. 196. № 2. P. 221–234.
- Schwaller M.A., Allard B., Lescot E., Moreau F. // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. № 39. P. 22709–22713.
- Gear A.R. // J. Biol. Chem. 1974. V. 249. № 11. P. 3628–3637.
- Khailova L.S., Silachev D.N., Rokitskaya T.I., Avetisyan A.V., Lyamzaev K.G., Severina I.I., Il'yasova T.M., Gulyaev M.V., Dedukhova V.I., Trendeleva T.A., et al. // Biochim. Biophys. Acta-Bioenergetics. 2014. V. 1837. № 10. P. 1739–1747.
- Denisov S.S., Kotova E.A., Plotnikov E.Y., Tikhonov A.A., Zorov D.B., Korshunova G.A., Antonenko Y.N. // Chem. Commun. 2014. V. 50. № 97. P. 15366–15369.
- Rokitskaya T.I., Terekhova N.V., Khailova L.S., Kotova E.A., Plotnikov E.Y., Zorov D.B., Tatarinov D.A., Antonenko Y.N. // Bioconjug. Chem. 2019. V. 30. № 9. P. 2435–2443.
- Terekhova N.V., Khailova L.S., Rokitskaya T.I., Nazarov P.A., Islamov D.R., Usachev K.S., Tatarinov D.A., Mironov V.F., Kotova E.A., Antonenko Y.N. // ACS Omega. 2021. V. 6. № 31. P. 20676–20685.
- Childress E.S., Alexopoulos S.J., Hoehn K.L., Santos W.L. // J. Med. Chem. 2018. V. 61. № 11. P. 4641–4655.
- Schonfeld P., Wieckowski M.R., Wojtczak L. // FEBS Lett. 2000. V. 471. № 1. P. 108–112.
- Andreyev A.Y., Bondareva T.O., Dedukhova V.I., Mokhova E.N., Skulachev V.P., Tsofina L.M., Volkov N.I., Vygodina T.V.



- // Eur. J. Biochem. 1989. V. 182. № 3. P. 585–592.
28. Rupprecht A., Sokolenko E.A., Beck V., Ninnemann O., Jaburek M., Trimbuch T., Klisshin S.S., Jezek P., Skulachev V.P., Pohl E.E. // *Biophys. J.* 2010. V. 98. № 8. P. 1503–1511.
29. Montal M., Mueller P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1972. V. 69. № 12. P. 3561–3566.
30. Wojtczak L., Schonfeld P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1993. V. 1183. № 1. P. 41–57.
31. Bertholet A.M., Chouchani E.T., Kazak L., Angelin A., Fedorenko A., Long J.Z., Vidoni S., Garriti R., Cho J., Terada N., et al. // *Nature.* 2019. V. 571. № 7766. P. 515–520.
32. Kreiter J., Rupprecht A., Skulj S., Brkljako Z., Zuna K., Knyazev D.G., Bardakji S., Vazdar M., Pohl E. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 5. P. 2490.
33. Samartsev V.N., Smirnov A.V., Zeldi I.P., Markova O.V., Mokhova E.N., Skulachev V.P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1997. V. 1319. № 2–3. P. 251–257.
34. Whitehouse M.W., Dean P.D. // *Biochem. Pharmacol.* 1965. V. 14. P. 557–567.
35. Lou P.H., Hansen B.S., Olsen P.H., Tullin S., Murphy M.P., Brand M.D. // *Biochem. J.* 2007. V. 407. № 1. P. 129–140.
36. Brockman H. // *Chem. Phys. Lipids.* 1994. V. 73. P. 57–79.
37. Liberman E.A., Topaly V.P. // *Biophysics (Moscow).* 1969. V. 14. P. 477–487.
38. Pickar A.D., Benz R. // *J. Membrane Biol.* 1978. V. 44. P. 353–376.
39. Gawrisch K., Ruston D., Zimmerberg J., Parsegian V.A., Rand R.P., Fuller N. // *Biophys. J.* 1998. V. 61. № 5. P. 1213–1223.
40. Popova L.B., Nosikova E.S., Kotova E.A., Tarasova E.O., Nazarov P.A., Khailova L.S., Balezina O.P., Antonenko Y.N. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2018. V. 1860. № 5. P. 1000–1007.
41. Teplova V.V., Belosludtsev K.N., Kruglov A.G. // *Toxicol. Lett.* 2017. V. 275. P. 108–117.
42. Pemberton R.M., Hart J.P. // *Analit. Chim. Acta.* 1999. V. 390. № 1–3. P. 107–115.
43. Kamp F., Hamilton J.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. № 23. P. 11367–11370.
44. Zuna K., Jovanovic O., Khailova L.S., Skulj S., Brkljako Z., Kreiter J., Kotova E.A., Vazdar M., Antonenko Y.N., Pohl E. // *Biomolecules.* 2021. V. 11. № 8. P. 1178.
45. Skulachev V.P., Sharaf A.A., Yaguzhinsky L.S., Jasaitis A.A., Liberman E.A., Topali V.P. // *Curr. Mod. Biol.* 1968. V. 2. № 2. P. 98–105.
46. Wilson D.F., Merz R. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1969. V. 129. № 1. P. 79–85.
47. Yaguzhinsky L.S., Smirnova E.G., Ratnikova L.A., Kolesova G.M., Krasinskaya I.P. // *J. Bioenerg. Biomembr.* 1973. V. 5. № 1. P. 163–174.
48. Afanas'eva E.V., Kostyrko V.A. // *Biochimie.* 1986. V. 51. № 5. P. 823–829.
49. Bona M., Antalík M., Gazova Z., Kuchar A., Davak V., Podhradský D. // *Gen. Physiol. Biophys.* 1993. V. 12. № 6. P. 533–542.
50. Wilson D.F., Rumsey W.L., Green T.J., Vanderkooi J.M. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. № 6. P. 2712–2718.
51. Antonenko Y.N., Khailova L.S., Rokitskaya T.I., Nosikova E.S., Nazarov P.A., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F., Kotova E.A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2019. V. 1860. № 4. P. 310–316.
52. Kenwood B.M., Weaver J.L., Bajwa A., Poon I.K., Byrnes F.L., Murrow B.A., Calderone J.A., Huang L., Divakaruni A.S., Tomsig J.L., et al. // *Mol. Metab.* 2014. V. 3. № 2. P. 114–123.
53. Iaubasarova I.R., Khailova L.S., Firsov A.M., Grivennikova V.G., Kirsanov R.S., Korshunova G.A., Kotova E.A., Antonenko Y.N. // *PLoS One.* 2020. V. 15. № 12. P. e0244499.
54. Starkov A.A., Bloch D.A., Chernyak B.V., Dedukhova V.I., Mansurova S.E., Severina I.I., Simonyan R.A., Vygodina T.V., Skulachev V.P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1997. V. 1318. № 1–2. P. 159–172.
55. Denisov S.S., Kotova E.A., Khailova L.S., Korshunova G.A., Antonenko Y.N. // *Bioelectrochemistry.* 2014. V. 98. P. 30–38.
56. Antonenko Y.N., Avetisyan A.V., Cherepanov D.A., Knorre D.A., Korshunova G.A., Markova O.V., Ojovan S.M., Perevoshchikova I.V., Pustovidko A.V., Rokitskaya T.I., et al. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 20. P. 17831–17840.
57. Samartsev V.N., Rybakova S.R., Dubinin M.V. // *Biofizika.* 2013. V. 58. № 3. P. 481–487.
58. Semenova A.A., Samartsev V.N., Dubinin M.V. // *Biochimie.* 2021. V. 181. P. 215–225.
59. Drachev L.A., Jasaitis A.A., Kaulen A.D., Kondrashin A.A., Liberman E.A., Nemecek I.B., Ostroumov S.A., Semenov A.Y., Skulachev V.P. // *J. Biol. Chem.* 1974. V. 249. № 455. P. 321–324.
60. Winget G.D., Kanner N., Racker E. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1977. V. 460. № 3. P. 490–499.
61. Cunarro J., Weiner M.W. // *Nature.* 1973. V. 245. P. 36–37.
62. Firsov A.M., Popova L.B., Khailova L.S., Nazarov P.A., Kotova E.A., Antonenko Y.N. // *Bioelectrochemistry.* 2021. V. 137. P. 107673.
63. Luvisetto S., Pietrobon D., Azzone G.F. // *Biochemistry.* 1987. V. 26. № 23. P. 7332–7338.
64. Carafoli E., Rossi C.S., Gazzotti P. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1969. V. 131. № 2. P. 527–537.
65. Brustovetsky N.N., Dedukhova V.I., Egorova M.V., Mokhova E.N., Skulachev V.P. // *FEBS Lett.* 1990. V. 272. № 1–2. P. 187–189.
66. Bragadin M., Dell'Antone P. // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1996. V. 30. № 2. P. 280–284.
67. Severin F.F., Severina I.I., Antonenko Y.N., Rokitskaya T.I., Cherepanov D.A., Mokhova E.N., Vyssokikh M.Y., Pustovidko A.V., Markova O.V., Yaguzhinsky L.S., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 2. P. 663–668.
68. Lyamzaev K.G., Tokarchuk A.V., Panteleeva A.A., Mulikdjanian A.Y., Skulachev V.P., Chernyak B.V. // *Autophagy.* 2018. V. 14. № 5. P. 921–924.
69. Starkov A.A. // *Biosci. Rep.* 1997. V. 17. № 3. P. 273–279.
70. Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. // *FEBS Lett.* 1997. V. 416. № 1. P. 15–18.
71. Caldeira da Silva C.C., Cerqueira F.M., Barbosa L.F., Medeiros M.H., Kowaltowski A.J. // *Aging Cell.* 2008. V. 7. № 4. P. 552–560.
72. Colman E. // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2007. V. 48. № 2. P. 115–117.
73. Geisler J.G. // *Cells.* 2019. V. 8. № 3. P. 280.
74. Perry R.J., Kim T., Zhang X.M., Lee H.Y., Pesta D., Popov V.B., Zhang D.Y., Rahimi Y., Jurczak M.J., Cline G.W., et al. // *Cell Metabolism.* 2013. V. 18. № 5. P. 740–748.
75. Perry R.J., Zhang D.Y., Zhang X.M., Boyer J.L., Shulman G.I. // *Science.* 2015. V. 347. № 6227. P. 1253–1256.
76. Kadri H., Lambourne O.A., Mehellou Y. // *ChemMedChem.* 2018. V. 13. № 11. P. 1088–1091.
77. Кожокару А.Ф. // *Международный журн. прикладных и фундаментальных исследований.* 2019. V. 10. № 1. P. 11–22.
78. Lewis K., Naroditskaya V., Ferrante A., Fokina I. // *J. Bioenerg. Biomembr.* 1994. V. 26. № 6. P. 639–646.
79. Tharmalingam N., Port J., Castillo D., Mylonakis E. // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 3701.
80. Valderrama K., Pradel E., Firsov A.M., Drobecq H., Baud-

- erlique-le Roy H., Villemagne B., Antonenko Y.N., Hartkoorn R.C. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2019. V. 63. № 10. e01450-19.
81. Hards K., McMillan D.G., Schurig-Briccio L.A., Gennis R., Lill H., Bald D., Cook G.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. V. 115. № 28. P. 7326–7331.
82. Garcia-Garcia V., Oldfield E., Benaim G. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016. V. 60. № 10. P. 6386–6389.
83. Feng X., Zhu W., Schurig-Briccio L.A., Lindert S., Shoen C., Hitchings R., Li J., Wang Y., Baig N., Zhou T., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015. V. 112. № 51. P. E7073–E7082.
84. Pentachlorophenol: Chemistry, pharmacology, and environmental toxicology. New York: Plenum Press, 1978.
85. Palmeira C.M., Moreno A.J., Madeira V.M. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994. V. 127. № 1. P. 50–57.
86. Hollingworth R.M., Gadelhak G.G. // *Rev. Toxicol.* 1998. V. 2. № 2. P. 253–266.
87. Clarke E.D., Greenhow D.T., Adams D. // *Pesticide Sci.* 1998. V. 54. № 4. P. 385–393.
88. Cadenas S. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2018. V. 1859. № 9. P. 940–950.
89. Zorov D.B., Andrianova N.V., Babenko V.A., Pevzner I.B., Popkov V.A., Zorov S.D., Zorova L.D., Plotnikov E.Y., Sukhikh G.T., Silachev D.N. // *Brain Sci.* 2021. V. 11. № 8. P. 1050.
90. Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Jankauskas S.S., Rokitskaya T.I., Chupyrkina A.A., Pevzner I.B., Zorova L.D., Isaev N.K., Antonenko Y.N., Skulachev V.P., Zorov D.B. // *Biochemistry (Moscow).* 2012. V. 7. № 9. P. 1029–1037.
91. Rai Y., Anita A., Kumari N., Singh S., Kalra N., Soni R., Bhatt A.N. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2021. V. 1862. № 1. P. 148325.
92. Tao H.L., Zhang Y., Zeng X.G., Shulman G.I., Jin S.K. // *Nature Medicine.* 2014. V. 20. № 11. P. 1263–1269.
93. Kanemoto N., Okamoto T., Tanabe K., Shimada T., Minoshima H., Hidoh Y., Aoyama M., Ban T., Kobayashi Y., Ando H., et al. // *Nat. Comm.* 2019. V. 10. № 1. P. 2172.
94. Shrestha R., Johnson E., Byrne F.L. // *Mol. Metab.* 2021. V. 51. P. 101222.
95. Tainter M.L. // *J. Pharm. Exp. Ther.* 1938. V. 63. P. 51–57.
96. Barros M.H., Bandy B., Tahara E.B., Kowaltowski A.J. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 48. P. 49883–49888.
97. Padalko V.I. // *Biochemistry (Moscow).* 2005. V. 70. № 9. P. 986–989.
98. Zorov D.B., Juhascova M., Sollott S.J. // *Physiol. Rev.* 2014. V. 94. № 3. P. 909–950.
99. Cerqueira F.M., Laurindo F.R., Kowaltowski A.J. // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 3. P. e18433.
100. Schlagowski A.I., Singh F., Charles A.L., Ramamoorthy T.G., Favret F., Piquard F., Geny B., Zoll J. // *J. Appl. Physiol.* 2014. V. 116. № 4. P. 364–375.
101. Berezhnov A.V., Soutar M.P., Fedotova E., Frolova M.S., Plun-Favreau H., Zinchenko V.P., Abramov A.Y. // *J. Biol. Chem.* 2016. V. 291. № 16. P. 8701–8708.
102. Shulman G.I., Petersen M.C., Vatner D.F. // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017. V. 13. № 10. P. 572–587.
103. Zorova L.D., Popkov V.A., Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Pevzner I.B., Jankauskas S.S., Babenko V.A., Zorov S.D., Balakireva A.V., Juhascova M., et al. // *Anal. Biochem.* 2018. V. 552. P. 50–59.
104. Gao J.L., Zhao J., Zhu H.B., Peng X., Zhu J.X., Ma M.H., Fu Y., Hu N., Tai Y., Xuan X.C., et al. // *Free Radic. Biol. Med.* 2018. V. 124. P. 288–298.