

ВЛИЯНИЕ НИКОТИНАМИД РИБОЗИДА НА АКТИВНОСТЬ АЛКОГОЛЬ- И АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗ ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

Шляхтун А.Г.¹, Букша Е.В.¹, Богдевич Е.В.¹,
Радута Е.Ф.¹, Сутько И.П.¹, Волчкевич О.М.²

¹Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси

²Гродненский государственный медицинский университет

Актуальность. Известно, что окисление этанола и ацетальдегида в гепатоцитах сопровождается наработкой восстановленной формы никотинамиддинуклеотида (НАДН) и дефицитом его окисленной формы. Внутриклеточный дисбаланс НАД/НАДН является ключевым событием, запускающим каскад повреждений гепатоцитов при алкогольной интоксикации. В случае чрезмерного употребления алкоголя или при алкогольном отравлении накопление НАДН в гепатоцитах приводит к снижению ферментативной активности систем окисления этанола и, соответственно, накоплению ацетальдегида, который на порядок более токсичен, чем этанол.

Для коррекции наступающего при алкогольной интоксикации дисбаланса НАД/НАДН в логично использовать метаболические предшественники биосинтеза НАД *de novo*, которые теоретически могут снизить степень поражения печени алкоголем и продуктами его метаболизма. Одним из предшественников НАД является никотинамида рибозид (НР). Литературных данных о его эффектах при алкогольной интоксикации не обнаружено.

Цель исследования заключалась в оценке влияния прекурсора биосинтеза НАД, никотинамидрибозид (НР), на активность алкоголь- и альдегиддегидрогеназ (АДГ и АльДГ) печени при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ).

Материалы и методы исследования. В работе использовали реактивы квалификации не ниже «хч». Для алкогольной интоксикации использован спирт-ректификат марки «Люкс». Буферные растворы готовили на деионизированной воде, полученной на системе Ultra H7 (Hydrolab, Польша). Пробы центрифугировали на Biofuge Pico (Heraeus, США) с охлаждаемым ротором (4 °С). Спектрометрирование проб проводилось в лунках 96-луночных планшетов в 2 повторностях на Multiscan Sky (Thermo Scientific, США). Синтез НР проводили по методу Haynes с соавт. [1]. Полученный НР исследовали методами ИК-Фурье-спектро-

скопии и хроматографически (НР – 98,2%) для подтверждения подлинности и чистоты продукта.

Исследование действия НР на активности ферментов системы метаболизма этанола при ХАИ проведено на самцах крыс Wistar массой 180–220 г. При работе с животными соблюдались этические нормы, принятые в международной практике биомедицинских исследований. ХАИ вызывали путем в/ж введения 30% раствора этанола в дозе 5,0 г/кг/сут на протяжении 14 суток. Животные были разделены на 3 экспериментальных групп по 8 особей в каждой. Животные с первого дня эксперимента получали в/ж НР в дозе 595 мг/кг/сут, через 2 ч после введения этанола. Печень выделяли без перфузирования на льду (0–4 °С). Ткани в течение 3 мин после эвтаназии замораживали в жидком азоте, а после хранили при –82 °С до исследования. Биохимические исследования ткани печени проводили в 10% гомогенатах, которые готовили на 1,15% KCl с 50 мМ Трис-HCl, pH 7,4. Активность АДГ в ткани печени оценивали по методу Nakajima и соавт. в нашей модификации [2]. Активность АльДГ определяли по Tottmar с соавт. [3] в митохондриальной (АльДГ с низкой Км) и постмитохондриальной фракциях (АльДГ с высокой Км). Концентрацию белка в пробах определяли по методу Bradford.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием Prism v.8.1 (GraphPad, США). Для выявления значимости отличий между группами использовали дисперсионный анализ и тест Тьюки. Различия считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5%. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего.

Результаты. Установлено, что в гомогенатах печени алкоголизированных крыс, не получавших предшественники НАД, наблюдалось снижение активности АДГ на 31,1%. Введение предшественника НР биосинтеза НАД предотвращало снижение активности АДГ в печени. Аналогичные изменения обнаружены и при исследовании активности АльДГ печени. Показано, что у животных, не получавших НР, происходило снижение активностей АльДГ с высокой и низкой Км к ацетальдегиду. При этом более выраженные изменения наблюдались для митохондриальной изоформы АльДГ (с низкой Км). При ХАИ активность АльДГ в митохондриях печени снижалась на 41,4% по сравнению с контролем. Введение НР на фоне алкоголизации сопровождалось не только сохранением, но и увеличением активностей митохондриальной АльДГ в сравнении с контролем. При ХАИ активности АльДГ с низкой Км к ацетальдегиду в группе крыс, получавших НР были в 1,22 раза выше, чем в группе ХАИ (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние НР на активности АДГ и АльДГ с низкой Км к ацетальдегиду при ХАИ у крыс, нмоль НАДН/мин/мг белка

Группы	Активность АДГ	Активность АльДГ
Контроль	10,31±1,04	9,43±1,1
ХАИ	7,11±0,51 ^a	5,52±1,51 ^a
ХАИ+НР	10,36±1,88 ^b	12,25±1,94 ^b

Примечание – а – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе; b – $p < 0,05$ по отношению к группе ХАИ.

Выводы. Полученные данные указывают на протекторное действие НР на системы метаболизма этанола и ацетальдегида у крыс при хронической алкогольной интоксикации вероятно обусловленное нормализацией наступающего при алкогольной интоксикации дисбаланса НАД/НАДН.

Литература

1. Codehydrogenases. Part II. A synthesis of nicotinamide nucleotide / L. J. Haynes [et al.] // J. Chem. Soc. – 1957. – P. 3727–3732. doi: 10.1039/JR9570003727.
2. Активность систем метаболизма спиртов и альдегидов печени крыс при тяжелой алкогольной интоксикации и коррекции комбинацией сукцината натрия, ацетилцистеина и ресвератрола / А. Г. Шляхтун [и др.] // Веснік ГрДУ імя Я. Купалы. Сер. 5. – 2021. – Т. 11. – № 3. – С. 126–132.
3. Tottmar, O. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver / O. Tottmar, H. Pettersson, K. H. Kiessling // Biochem. J. – 1973. – Vol. 135. – P. 577–586. doi: 10.1042/bj1350577a.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НИКОТИНАМИДАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА В ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ЕГО БИОСИНТЕЗА

Шляхтун А.Г.¹, Сутько И.П.¹, Букша Е.В.¹, Радута Е.Ф.¹,
Богдевич Е.В.¹, Волчкевич О.М.²

¹Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси

²Гродненский государственный медицинский университет

Актуальность. Никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺) является кофактором многих дегидрогеназ в окислительно-восстановительных реакциях, а также субстратом ряда регуляторных белков, таких как сиртуины и АДФ-рибозилтрансферазы, что делает его ключевым компонентом