

Литература:

1. Андреева, О. П. Электронные сигареты: альтернатива курению или вред / О. П. Андреева, А. А. Терехов // Наука и образование. – 2022. – Т. 5, № 2. – С. 1–6.
2. Васильева, Т. Е. Чем вреден вейп для здоровья человека? / Т. Е. Васильева, Е. В. Герасимова // Студенч. наука и XXI век. – 2021. – Т. 18, № 1-1 (21). – С. 14–16.
3. Перцев, А. М. Вейпинг: токсичность, воздействие на организм (обзор) / А. М. Перцев, А. А. Яковлев, А. А. Налетов // Науч. форум. Сибирь. – 2022. – Т. 8, № 1. – С. 36–38.

ПРОФИЛАКТИКА СНИЖЕНИЯ АКТИВНОСТИ АЛКОГОЛЬ- И АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗ ПЕЧЕНИ ПРЕДШЕСТВЕННИКАМИ БИОСИНТЕЗА ПРИ ТЯЖЕЛОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

Букша Е. В., Богдевич Е.В.

Институт биохимии НАН Беларуси, г. Гродно
Научные руководители – Шляхтун А.Г., к.б.н. Сутько И.П.

Актуальность. Известно, что основная часть употребляемого этанола окисляется в печени до ацетальдегида тремя ферментными системами: более 90-95 % экзогенного алкоголя метаболизируется алкогольдегидрогеназами (АДГ), до 10 % – микросомальной этанол-окисляющей системой и незначительные количества (2-3 %) каталазой. Метаболизм этанола АДГ сопровождается значительной нагрузкой восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН). Окисление ацетальдегида – основного метаболита этанола, до ацетата, также сопровождается восстановлением НАД до НАДН в цитозоле гепатоцитов, а так как альдегиддегидрогеназа (АльдГ) с низкой K_m к ацетальдегиду локализована внутримитохондриально, то и в митохондриях. Накопление в митохондриях НАДН при окислении ацетальдегида снижает активность цитратсинтазы, оксоглутаратдегидрогеназы и других ферментов, снижает продукцию АТФ и нарушает процессы митохондриального дыхания, кроме того, индуцирует выработку активных форм кислорода.

В случае постоянного злоупотребления алкоголем или при алкогольном отравлении накопление НАДН в гепатоцитах приводит к снижению активности систем окисления этанола, накоплению ацетальдегида, который на порядок более токсичен, чем этанол.

Для устранения дисбаланса НАД/НАДН при алкогольной интоксикации предложено использовать метаболические предшественники биосинтеза НАД в гепатоцитах *de novo*. В качестве предшественников биосинтеза НАД изучены никотинамид (НА), никотинамидрибозид (НР) и никотинамидмононуклеотид (НМН). Литературные данные о том, что НР и НМН исследовались при алкогольной интоксикации, отсутствуют.

Цель работы заключалась в оценке влияния профилактического введения предшественников биосинтеза никотинамидадениндинуклеотида на активности систем метаболизма спиртов и альдегидов в печени крыс при моделировании тяжелой алкогольной интоксикации.

Материалы и методы. В работе использовали реактивы квалификации не ниже «хч». Для моделирования алкогольной интоксикации использован этиловый спирт марки «Люкс». Буферные растворы готовили на деионизированной воде. При подготовке проб использовалась рефрижерлируемая центрифуга (4°C) Biofuge Pico (Heraeus, США). Спектрофотометрирование проб проводилось в лунках 96-луночных планшетов в 2 повторностях на Multiscan Sky (Thermo Scientific, США).

Для синтеза НР использовали метод Haynes с соавт. [1], НМН – метод Visscher и Schwartz [2] в модификации Liu [3]. Подлинность субстанций подтверждена методами ИК-Фурье-спектроскопии. Чистота полученных НР и НМН исследована хроматографически (НР – 98,2% и НМН - 96,8%).

Исследование влияния НА, НР и НМН на активности алкоголь-(АДГ) и АльДГ проведено на самцах крыс линии Wistar массой 180–220 г. При работе с животными соблюдались этические нормы, принятые в международной практике биомедицинских исследований. Животные были разделены на 5 экспериментальных групп по 10 особей в каждой. Соединения вводились животным профилактически, за 2 часа до введения этанола, остро, разово, в дозе по 4,1 ммоль/кг, что эквивалентно 500 мг/кг НА. Препараты вводились внутрижелудочно в виде взвеси в 2% крахмале. Тяжелую острую алкогольную интоксикацию (АИ) у крыс вызывали внутрибрюшинным однократным введением раствора этанола в дозе 10 г/кг. Контрольные животные получали вместо препаратов 2% раствор крахмала, а вместо этанола эквивалентные количества физиологического раствора. Через 2 часа после введения

этанола животных декапитировали. Печень выделяли без перфузии на льду (0-4°C). В течение 3 мин после эвтаназии ткани замораживали в жидком азоте. Образцы хранились при -82°C до исследования. Биохимические исследования печени проводили в 10 % гомогенатах, которые готовили на 1,15% KCl с 50 мМ Трис-HCl, pH 7,4. Активность АДГ в печени оценивали по модифицированному методу Nakajima [4]. Активность АльДГ определялась по методу Tottmar с соавт. [5] в митохондриальной (активность АльДГ с низкой Km) и постмитохондриальной фракциях (активность АльДГ с высокой Km). Активности АДГ и АльДГ выражали в нмоль НАДН/мин/мг белка. Концентрацию белка в пробах определяли по методу Bradford [7].

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

Результаты исследований. Метаболизм этанола и ацетальдегида в гепатоцитах сопровождается активной наработкой НАДН и дефицитом НАД. Внутриклеточный дисбаланс НАД/НАДН оказывает глубокое влияние на основные метаболические пути, которые требуют окисленной формы кофермента или ингибируются НАДН, в частности подавляется активность ряда ключевых ферментов гликолиза, цикла лимонной кислоты, β -окисления жирных кислот и др., в том числе и систем метаболизма этанола и ацетальдегида.

Установлено, что АИ сопровождалась снижением активности АДГ в печени на 33,0% по сравнению с контрольной группой, активность АльДГ с высокой Km к ацетальдегиду у животных практически не изменялась, в то же время активность АльДГ с низкой Km к ацетальдегиду (митохондриальной) у животных была ниже почти в 2 раза, чем у контрольных животных (таблица).

В группах крыс, получавших НР и НМН до алкогольной интоксикации, активности АДГ сохранялись на уровне контрольной группы. У животных, получавших НА активность АДГ находилась на уровне группы «АИ». Предварительное введение животным НР сопровождалось увеличением активностей митохондриальной АльДГ из печени крыс на 48 %, по сравнению с группой ТАИ, однако не достигало контрольных величин. Активность митохондриальной альдегидде-

гидрогеназы в печени крыс под влиянием предварительного введения НМН оставалась на уровне контрольных значений (таблица).

Таблица 1 – Влияние предшественников биосинтеза НАД на активности ферментов метаболизма спиртов и альдегидов в печени крыс при АИ

Группы	Активность АДГ	Активность АльДГ	
		с высокой Км	с низкой Км
Контроль	6,47±0,40	7,80±1,20	9,64±1,21
АИ	4,33±0,24 ^a	6,62±1,20	4,91±1,22 ^a
НА+АИ	4,26±0,53 ^a	7,82±1,12	5,31±1,20 ^a
НР+АИ	6,61±0,52 ^b	7,62±1,23	7,28±0,98
НМН+АИ	6,56±0,33 ^b	7,31±0,82	9,70±0,84

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

Выводы. Полученные данные указывают на защитное действие предшественников биосинтеза НАД на системы метаболизма этанола и ацетальдегида у крыс при острой алкоголизации. Наиболее эффективными протекторами в этом отношении в условиях эксперимента выступили НР и НМН, в то время как НА не оказывал значимого действия на активности АДГ и АльДГ.

Литература:

1. Codehydrogenases. Part II. A synthesis of nicotinamide nucleotide / L. J. Haynes [et al.] // J. Chem. Soc. – 1957. – P. 3727–3732.
2. Visscher, J. Selective cleavage of pyrophosphate linkages / J. Visscher, A. W. Schwartz // Nucleic Acids Res. – 1992. – Vol. 20, Iss. 21. – P. 5749–5752. (2)
3. Liu, R. A novel preparation of nicotinamide mononucleotide / R. Liu, J. Visscher // Nucleosides Nucleotides. – 1994. – Vol. 13, Iss. 5. – P. 1215–1216.
4. 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.
5. 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.

6. Hadwan, M.H. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissue / M.H. Hadwan // BMC Biochem. – 2018. – Vol. 19, Iss.1. – Article ID: 7.

7. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // Anal Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

ИНФОРМИРОВАННОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ О ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ И ИСТОЧНИКАХ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ КАК ПРОФИЛАКТИКЕ ГИПОВИТАМИНОЗА

Валах К.А.

Гродненский государственный медицинский университет
Научный руководитель – Синкевич Е.В.

Актуальность. Гиповитаминоз фолиевой кислоты – это заболевание, характеризующееся недостаточностью витамина В₉, вызванное его недостаточным поступлением с пищей, нарушением всасывания или ускоренным выведением из организма. Дефицит фолиевой кислоты можно разделить на первичный или вторичный. Первичный дефицит вызван неправильным питанием. При вторичном дефиците рекомендуемое количество витамина В₉ может поступать в организм, но из-за некоторых проблем, таких как желудочно-кишечные расстройства, мальабсорбция (синдром нарушенного всасывания), прием некоторых лекарств, аллергия, метаболические заболевания, питательное вещество неэффективно всасывается и/или метаболизируется. Независимо от причины, достаточно длительный дефицит витаминов приводит к постепенной потере организмом их запасов [2].

Гиповитаминоз может быть вызван как недостатком витаминов в пище, так и нарушениями обмена веществ в организме. В первом случае гиповитаминоз называется экзогенным, во втором – эндогенным [1].

Основным клиническим проявлением недостатка фолиевой кислоты является заболевание анемией – мегалобластической и макроцитарной. В крови появляются большие незрелые кроветворные клетки – мегалобласты. Снижается количество эритроцитов и гемоглобина в крови, причем эритропения выражена в большей степени, чем снижение уровня гемоглобина.