

ЛИТЕРАТУРА

1. Comparison of toxic responses to acetaminophen challenge in ICR mice originating from different sources / T.B. Jeong [et al.] // *Laboratory Animal Research*. – 2019. – Vol. 35. – P.16.
2. Functional amino acids in pigs and chickens: implication for gut health / T. Chalvon-Demersay [et al.] // *Front Vet Sci*. – 2021. – Vol. 25, №8. – P.663–727.
3. Protective effects of taurine on growth performance and intestinal epithelial barrier function in weaned piglets challenged without or with lipopolysaccharide / Z. Tang [et al.] // *Animal Prod Sci*. – 2018. – Vol. 58. – P. 2011–2020. doi: 10.1071/AN16249
4. Аминокислотный состав микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника крыс при энтеральном введении смесей аминокислот / В. М. Шейбак [и др.] // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. – 2016. – Т.15, №3. – С. 5–11.

МИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ БИОСИНТЕЗА НИКОТИНАМИДА ДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Шляхтун А.Г., Максимчик Ю.З., Букша Е.В., Сутько И.П., Радуга Е.Ф,
Богдевич Е.В, Мотылевич Ж.В., Гуринович В.А.

ГП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», г. Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Митохондриальная дисфункция, развивающаяся при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ), считается одним из ключевых событий, запускающих развитие алкогольного поражения печени [2]. Одним из ключевых событий, запускающих каскад повреждения гепатоцитов, и в том числе митохондрий, при ХАИ является дисбаланс НАД/НАДН. Для его коррекции предложено использовать метаболитические предшественники биосинтеза НАД *de novo* – никотинамид (НА), никотинамида рибозид (НР) и никотинамида мононуклеотид (НМН). Влияние этих соединений на митохондрии печени при алкогольной интоксикации не исследовано [3].

Цель работы. Оценить митопротекторное действие предшественников биосинтеза НАД при ХАИ.

Материалы и методы исследования. Моделирование ХАИ проводили на самцах крыс линии Wistar массой 160–180 г. ХАИ вызывали путем в/ж введения 30 % в/о этанола дважды в сутки в дозе 5,0 г/кг/раз, в 8⁰⁰ и 20⁰⁰, на протяжении 14 дней. Животные были разделены на 5 групп по 8 крыс в каждой. Крысы получали НА, НР или НМН, с первого дня эксперимента в/ж по 2,05 ммоль/кг/сут, утром, через 2 ч после этанола. В конце эксперимента животных эвтаназируют. Митохондрии получали путём дифференциального центрифугирования в среде выделения из 0,25 М сахарозы, 20 мМ Трис и 1 мМ ЭДТА, рН 7,2. Активности комплексов электрон-транспортной цепи

митохондрий (ЭТЦ) I (НАДН-дегидрогеназа), II (сукцинатдегидрогеназа) и IV (цитохром *c* оксидаза), а также активность цитратсинтазы оценивали (CS) ранее описанными методами [1]. Для оценки процессов пероксидации в митохондриях определяли концентрации соединений, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), а для оценки антиоксидантной системы определяли содержание низкомолекулярных тиолов (НМТ) по методу Элмана, активности глутатионредуктазы (ГР) по Carlberg и Mannervik, глутатион-S-трансферазы (GST) по Habig, глутатионпероксидазы (ГПО) по Paglia и Valentine и каталазы. Содержание белка в митохондриальной фракции определяли по Lowry в модификации Peterson.

Результаты и обсуждение. Известно, что метаболизм ацетальдегида, тесно связан с митохондриями, так как его окисление катализируемое АльДГ-2 сопровождается снижением соотношения НАД/НАДН, что в свою очередь приводит к снижению активности ферментов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и нарушением переноса электронов в ЭТЦ. При этом усиливается образование активных форм кислорода (АФК), за счет утечки электронов с комплексов I-III ЭТЦ на кислород.

Установлено, что ХАИ привела к существенному снижению активностей комплексов I, II и IV ЭТЦ, на 22,7 %, 21,1 % и 51,5 %, а также активности CS на 52,0 % по сравнению с контрольной группой. Активность CS является маркером митохондриальной массы и отражает количество функционально активных митохондрий. Снижение активности CS в митохондриальной фракции печени при ХАИ свидетельствуют об уменьшении количества функционально активных митохондрий (рисунок).

Показано, что введение НА при ХАИ сопровождалось сохранением активностей I и II комплексов на контрольных уровнях, но активность IV комплекса была ниже на 34,3 % чем в контрольной группе. При введении никотинамида на фоне ХАИ активность CS также была ниже на 17,7 % чем в контроле. Введение животным НР и НМН сопровождалось сохранением активностей комплексов I, II и IV, а также активности CS на уровне контрольных значений, что свидетельствует о выраженном митопротекторном действии соединений при ХАИ (рисунок).

Установлено, что содержание ТБКРС в митохондриальной фракции печени крыс при ХАИ было практически в 2 раза выше по сравнению с контролем. При этом концентрации НМТ снижались на 34,9 % по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты вместе с данными о снижении активностей комплексов ЭТЦ и CS, подтверждает развитие в митохондриях печени выраженного окислительного стресса при ХАИ (таблица).

Активности антиоксидантных ферментов в митохондриях печени при ХАИ были значимо выше, чем в контроле – отмечено увеличение активности ГР на 50,1 % и GST на 89,7 % по сравнению с контролем. Наблюдаемые изменения активностей ГР и GST, вероятно, носят адаптивный характер и направлены на устранение последствий окислительного стресса.

Введение на фоне алкоголизации НА незначительно улучшало показатели пероксидации и состояния антиоксидантной системы митохондрий, по

сравнению с животными, не получавшими препараты, тогда как у животных, получавших НР и НМН, уровни ТБКРС, глутатиона, активности ферментов антиоксидантной системы сохранялись на контрольных уровнях (таблица).

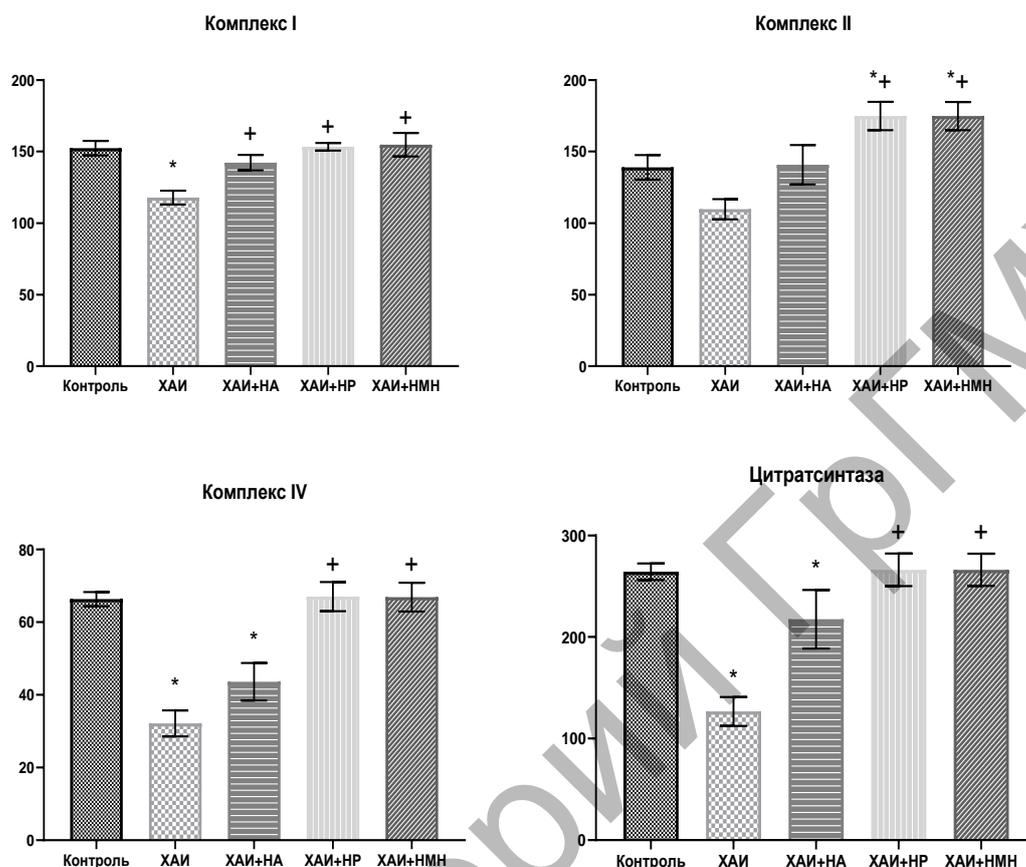


Рисунок – Влияние предшественников биосинтеза НАД на активности I, II и IV комплексов ЭТЦ митохондрий и CS в печени крыс при ХАИ
 Обозначения: *, + – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе и к группе ХАИ

Таблица– Влияние НА, НР и НМН на содержание ТБКРС и показатели антиоксидантной системы митохондрий печени крыс при ХАИ

Показатели	Группы				
	Контроль	ХАИ	ХАИ+НА	ХАИ+НР	ХАИ+НМН
ТБКРС, нмоль/мг	4,95±0,33	9,69±0,72 ^А	7,63±0,82 ^А	5,57±0,44 ^В	5,64±0,25 ^В
Глутатион, нмоль/мг	5,73±0,35	3,73±0,37 ^А	3,92±0,51 ^А	6,36±0,55 ^В	6,21±0,34 ^В
ГР, нмоль/мин/мг	15,70±1,86	23,57±1,09 ^А	17,22±1,59 ^В	15,42±0,77 ^В	14,44±0,73 ^В
ГСТ, мкмоль/мин/мг	1,50±0,14	2,84±0,28 ^А	2,01±0,16 ^В	1,71±0,17 ^В	1,91±0,17 ^В
Каталаза, ед/мин/мг	30,55±1,56	23,98±1,65 ^А	18,82±2,36 ^А	29,72±2,49 ^В	28,34±1,54 ^В

Примечание – А, В – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе и к группе ХАИ

Выводы. Установлено, что ХАИ сопровождается увеличением содержания продуктов пероксидации и снижения показателей антиоксидантной системы, значимым нарушением функционального, и вероятно, структурного состояния митохондрий печени крыс. Полученные результаты показывают, что предшественники биосинтеза НАД – НА, НР и НМН оказывают митопротекторное действие в условиях ХАИ. При этом протекторное действие значительно более выражено у НР и НМН, тогда как эффект НА достаточно умеренный.

ЛИТЕРАТУРА

1. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells / M. Spinazzi [et al.] // Nature Protocols. – 2012. – Vol. 7, Iss. 6. – P. 1235–1246.
2. Middleton, P. Mitochondrial dysfunction and liver disease: role, relevance, and potential for therapeutic modulation / P. Middleton, N. Vergis // Therap. Adv. Gastroenterol. – 2021. – Vol. 14. – Article ID. 17562848211031394.
3. Preclinical and clinical evidence of NAD⁺ precursors in health, disease, and ageing / O. K. Reiten [et al.] // Mech. Ageing Dev. – 2021. – Vol. 199. – Article ID.111567.

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМОВ P450 ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВ, МЕЖЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ И ПОИСКА НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТОВ И ИНГИБИТОРОВ ЭТИХ ФЕРМЕНТОВ

Шумянцева В.В.^{1,2}, Королева П.И.¹, Булко Т. В.¹, Агафонова Л.Е.¹,
Масамрех Р.А.^{1,2}, Кузиков А.В.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н. Ореховича

²Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова, г. Москва, Российская Федерация

Актуальность

Все метаболические процессы организма человека регулируются ферментными системами. Цитохромы P450 активно исследуются вследствие высокой функциональной и медицинской значимости (Guengerich F.P., 2018). Широкая субстратная специфичность цитохромов P450 позволяет использовать их для исследования метаболических превращений лекарственных препаратов, для получения фармакологически значимых химических соединений (Schneider, E., Clark, D. S., 2013). Монооксигеназная система цитохромов P450 выполняет функции контроля, выведения, регуляции уровня метаболитов, гормонов, защиты от повреждающего действия ксенобиотиков. Системы цитохромов P450 являются одним из основных источников генерации активных форм кислорода (АФК). Электрохимические цитохром P450-системы активно используются как