

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

в режиме биосенсоров для регистрации субстрат-ингибиторного потенциала этого класса гемопротеинов, так и для исследования сложного и многостадийного механизма цитохромов P450 (Shumyantseva et. al., 2018).

Цель

Целью данного исследования является разработка методов для регистрации метаболической трансформации лекарств, анализа субстрат/ингибиторного потенциала цитохромов P450, для исследования межлекарственных взаимодействий, а также разработка подходов для повышения эффективности цитохром P450-электрокаталитических процессов.

Материалы и методы исследования

В работе использовали трехконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати (ООО «КолорЭлектроникс», Москва, <http://www.colorel.ru/>); с графитовыми рабочим с диаметром электрода 0,2 см (площадь 0,0314 см²) и вспомогательными и хлорсеребряным электродом сравнения. Потенциалы объектов приведены по отношению к электроду сравнения (Ag/AgCl). Электрохимические исследования цитохромов P450 проводили в электролитном буфере состава 0,1 М калий-фосфат, и 0,05 М NaCl, pH 7,4. Электрохимические исследования проводили с помощью потенциостата/гальваностата AUTOLAB PGSTAT 302N («Metrohm Autolab», Нидерланды), программное обеспечение NOVA (версия 2.0) и потенциостата/гальваностата AUTOLAB PGSTAT12 12 (программное обеспечение GPES). Для анализа каталитической активности цитохромов P450 использовали циклическую вольтамперметрию, квадратно-волновую вольтамперметрию, дифференциально-импульсную вольтамперметрию, амперметрию при контролируемом потенциале рабочего электрода. Для иммобилизации цитохромов P450 использовали химически модифицированные электроды.

Результаты и обсуждение

В нашем исследовании предложена неинвазивная модель на основе цитохромов P450, иммобилизованных на электроде как источнике электронов, для исследования межлекарственных взаимодействий при проведении комплексной терапии (Рис. 1). Исследованы электрокаталитические цитохром P450 3A4, P450 2C9, P45017A1 системы как наиболее функционально-значимые изоформы. Найдены эффективные ингибиторы цитохрома P450 17A1 как потенциальные препараты для лечения рака предстательной железы (Kuzikov A.V. et. al., 2014). Показана стимулирующая роль антиоксидантных метаболических препаратов (мексидол, таурин, цитохром с, витамин с) на каталитическую активность цитохромов P450. Антиоксидантные метаболические препараты стабилизируют изоферменты цитохрома P450 проявляя свойства «ловушек» активных форм кислорода за счет уменьшения скорости накопления пероксида водорода и кислородсодержащих радикалов, образующегося при разобщении каталитического цикла. В режиме перехода от 2Д к 3Д сенсору за счет включения фермента в регулярные нанопоровые мембраны анодного оксида алюминия (Anodisc 13), или порообразующего белка стрептолизина O, помещенные на рабочую поверхность электрода

(Шумянцева В.В. и др., 2022) показано повышение эффективности электрокатализа цитохромов P450 3A4 и 2C9.



Рис. 1. Схема электрон-транспортных путей цитохрома P450 в природной и электрохимической системах

Выводы

Биокомплексы с флавиновыми нуклеотидами и рибофлавином как модели электрон-транспортной цепи переноса электродов исследованы в реакциях N-деметилирования эритромицина и 4-гидроксилирования диклофенака (Shumyantseva V.V., 2023). Разработанные подходы позволили увеличить эффективность электрокаталитических цитохром P450-систем на 20-200 %.

Разработанные электрохимические системы на основе цитохромов P450 3A4, P450 2C9, P340 17A1 являются эффективными неинвазивными моделями для анализа межлекарственных взаимодействий на уровне биотрансформации ксенобиотиков, для поиска новых лекарственных препаратов в качестве субстратов или ингибиторов этого функционально значимого класса гемопротеинов. Проведено исследование влияния клинически значимых комбинаций на активность цитохрома P450 3A4. Установлено влияние витаминов группы В и антиоксидантных метаболитических препаратов на каталитическую активность цитохрома P450 3A4 по отношению к нестероидному противовоспалительному препарату диклофенаку (вольтарен) и макролидным антибиотикам эритромицину и кларитромицину. Полученные результаты могут быть использованы для направленной модуляции активности цитохромов P450 у полиморбидных пациентов, получающих комбинированную фармакотерапию. Разработаны подходы для повышения эффективности электрохимических систем на основе функционально значимых цитохромов P450 3A4 и 2C9. Разработаны методы электрохимического анализа субстратов и метаболитов цитохромов P450 для количественной оценки каталитической активности этого класса гемопротеинов.

Исследование выполнено в рамках проекта по созданию и развитию научных центров мирового уровня «Цифровой дизайн и персонализированное здравоохранение» при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение No 075-15-2022-305).

ЛИТЕРАТУРА

4. Guengerich F. P. Reference Module in Biomedical Sciences. Comprehensive Toxicology (Third Edition) 2018, 54–86.
5. Kuzikov A. V., Dugin N. O., Stulov S. V., Shcherbinin D. S., Zharkova M. S., Tkachev Y. V., Timofeev V. P., Veselovsky A. V., Shumyantseva V. V., Misharin A. Yu. Steroids. 2014. 38, 66-71.
6. Schneider, E., Clark, D. S. 2013, Biosens. Bioelectron., 39, 1-13.
7. Shumyantseva V. V., Koroleva P. I., Bulko T. V., Shkel T. V., Gilep A. A., Veselovsky A. V. Bioelectrochemistry, 2023, 149, 108277.
8. Shumyantseva V. V., Kuzikov A. V., Masamrekh R. A., Bulko T. V., Archakov A. I. Biosens. Bioelectron. 2018. 121, 192-204.
9. Шумянцева В. В., Королева П. И., Гилеп А. А., Напольский К. С., Иванов Ю. Д., Канашенко С. Л., Арчаков А. И. Доклады РАН. Науки о жизни 2022, 506, 62-67.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК БИОХИМИЧЕСКАЯ ПРИЧИНА СТАРЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Юсафзай Н.А., Болдак Е.А., Виницкая А.Г.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь*

На данный момент существует множество теорий, объясняющих причины старения: эволюционная, митохондриальная, гликозилирования белков; повреждения ДНК, и другие теории. Одной из основных ученые считают теорию оксидативного или окислительного стресса [1].

В 1956 году советский академик *Н.Н. Семенов* получил Нобелевскую премию за открытие свободных радикалов. Позже на основе этого открытия *D. Harman* выдвинул гипотезу о наличии связи между старением организма и процессами производства и накопления активных форм кислорода (АФК) в тканях [2]. В соответствии с этой гипотезой при старении возрастает риск повреждения молекул ДНК, белков и липидов, что может привести к старению кожи, развитию онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, ожирению, сахарному диабету 2-го типа [2, 3].

Окислительный стресс – это несостоятельность антиоксидантной системы организма, при которой клетки подвергаются воздействию чрезмерных уровней АФК. Свободный радикал – это молекула, имеющая неспаренный электрон на внешней орбите, что обуславливает его агрессивность и способность не только вступать в реакцию с белками, нуклеиновыми кислотами и липидами биологических мембран клеток, но также и превращать их в свободные