



НОРМАЛИЗАЦИЯ НАД-РЕДОКС-БАЛАНСА КАК СТРАТЕГИЯ ПРОФИЛАКТИКИ АЛКОГОЛЬ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ: ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

А. Г. Шляхтун¹, А. А. Островский¹, Е. Ф. Радута¹, И. П. Сутько²

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

²Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

Введение. Хроническое потребление этанола приводит к нарушению НАД-редокс-баланса в печени, что является ключевым звеном в патогенезе алкоголь-индуцированного повреждения. Восстановление пула НАД рассматривается как перспективная стратегия профилактики алкогольной болезни печени.

Цель. Оценить профилактическую эффективность предшественников биосинтеза НАД (никотинамида, никотинамидрибозид и никотинамидмононуклеотида) в отношении развития поражения печени в модели хронической алкогольной интоксикации.

Материал и методы. Половозрелые крысы-самцы линии Wistar получали 30% этанол (10 г/кг/сутки, 14 суток) и на этом фоне предшественники биосинтеза НАД по 2,05 ммоль/кг/сутки. Оценивали биохимические показатели сыворотки, гистологию печени, активность ферментов метаболизма этанола и антиоксидантной системы, уровни НАД/НАДН и маркеры окислительного стресса.

Результаты. Предшественники биосинтеза НАД в значительной степени предотвращали развитие гиперферментемии, гистологических повреждений и окислительного стресса, нормализовали соотношение НАД/НАДН и активность ферментов окисления этанола и ацетальдегида.

Выводы. Профилактическое введение никотинамидрибозид и никотинамидмононуклеотида эффективно предотвращает алкогольное повреждение печени за счет восстановления НАД-редокс-статуса, усиления детоксикации ацетальдегида и подавления окислительного стресса.

Ключевые слова: алкогольная болезнь печени, гепатопротектор, никотинамидадениндинуклеотид, никотинамид, никотинамидрибозид, никотинамидмононуклеотид

Для цитирования: Нормализация НАД-редокс-баланса как стратегия профилактики алкоголь-индуцированной гепатотоксичности: доклиническое исследование / А. Г. Шляхтун, А. А. Островский, Е. Ф. Радута, И. П. Сутько // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2026, Т. 24, № 1. С. 60-67. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2026-24-1-60-67>

Введение

Алкоголь-ассоциированные заболевания печени (алкогольная болезнь печени, АБП) остаются одной из наиболее значимых проблем мирового здравоохранения. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, злоупотребление алкоголем приводит к 2,6 млн случаев смерти ежегодно, причем бремя АБП продолжает расти. Патогенез АБП представляет собой последовательный процесс, начинающийся с алкогольного стеатоза и прогрессирующий до стеатогепатита, и далее фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы [1].

Ключевым звеном в каскаде токсических эффектов этанола является нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза в гепатоците, в первую очередь – сдвиг баланса между окисленной и восстановленной формами никотинамидадениндинуклеотида (НАД/НАДН), возникающий в результате интенсивного окисления этанола и ацетальдегида [2]. Дефицит НАД приводит к дисфункции митохондрий, индукции окислительного стресса и нарушению активности ключевых метаболических путей, что в совокупности инициирует гибель гепатоцитов [3]. Сдвиг соотношения НАД/НАДН в печени усугубляется комплексом нутриционных, метаболических и транспортных нарушений, индуцированных алкоголем [4].

Таким образом, профилактическая стратегия при алкогольном поражении печени должна быть ориентирована на предупреждение метаболического дисбаланса НАД/НАДН до развития необратимых морфологических изменений.

Наиболее перспективным представляется своевременное восстановление пула НАД с помощью его метаболических предшественников. Традиционно рассматриваемый никотинамид (НАМ) обладает ограниченной эффективностью и может ингибировать сиртуины [5]. Среди предшественников биосинтеза НАД никотинамидрибозид (НР) и никотинамидмононуклеотид (НМН) являются высокоэффективными субстратами для прямого синтеза НАД, минуя лимитирующие этапы, и обладают доказанным профилем безопасности в клинических исследованиях (рис. 1) [6].

Однако потенциал этих соединений в контексте профилактики гепатотоксичности именно на фоне алкогольной интоксикации, то есть для прерывания каскада повреждения печени на его старте, практически не изучен.

Цель настоящей работы – оценить профилактическую эффективность предшественников биосинтеза НАД (НАМ, НР и НМН) в отношении развития поражения печени в модели хронической алкогольной интоксикации (ХАИ). Авторская гипотеза заключается в том, что

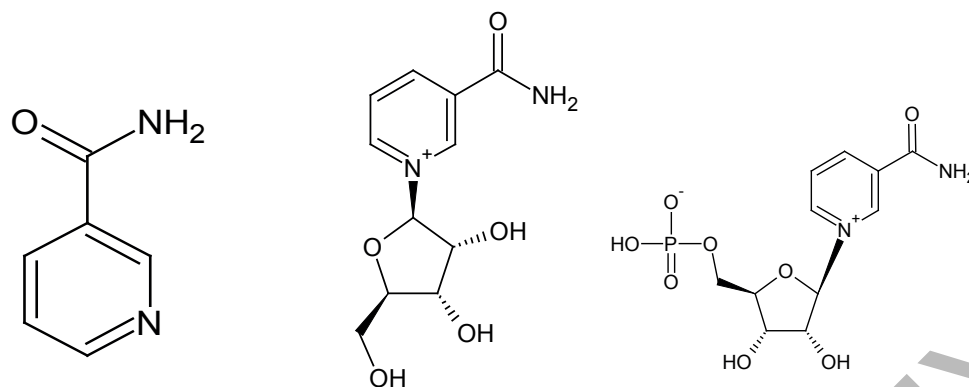


Рисунок 1 – Химические структуры некоторых предшественников биосинтеза никотинамидадениндинуклеотида
 Figure 1. – The chemical structures of some precursors of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis

введение предшественников НАД на фоне употребления этанола может значительно ослабить развитие НАД-редокс-дисбаланса и связанных с ним метаболических, биохимических и структурных нарушений в гепатоцитах.

Материал и методы

Исследование проведено на 40 половозрелых крысах-самцах линии Wistar с массой в начале эксперимента 180–200 г. Животные были акклиматизированы к условиям вивария в течение 7 суток до начала эксперимента. Содержание осуществляли в стандартных пластиковых клетках (по 8 особей в клетке) при контролируемой температуре ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), относительной влажности ($55 \pm 10\%$) и естественном световом цикле. Доступ к стандартному гранулированному комбикорму и воде осуществлялся *ad libitum*.

При работе с животными соблюдались этические нормы, установленные «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях». Дизайн эксперимента одобрен комитетом по биоэтике ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси» (протокол № 4 от 10.10.2023 г.).

В работе использовали НАМ производства Sigma-Aldrich (кат. № N-3376). Синтез НР и НМН проводили как описано ранее [7]. Подлинность соединений и чистота ($>98\%$) подтверждены при помощи инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье и хроматографически. Все остальные использованные реактивы и растворители были квалификации «х.ч.» или «о.с.ч.». Буферные растворы готовили с использованием деионизированной воды, полученной на системе деионизации Ultra H7 (Hydrolab, Польша).

Для моделирования токсического алкогольного поражения печени использована модель форсированной ХАИ, позволяющая в короткие сроки вызвать у крыс острый алкогольный гепатит.

Животные были случайным образом разделены на 5 экспериментальных групп по 8 крыс в каждой: контрольную, ХАИ, ХАИ + НАМ, ХАИ + НР и ХАИ + НМН.

Для индукции алкогольного поражения печени крысам внутрижелудочно вводили 30% раствор этанола в дозе 10 г/кг/сутки на протяжении 14 суток. Раствор этанола вводился дважды в сутки в разовой дозе 5,0 г/кг в утреннее и вечернее время с интервалом 12 часов (8:00 и 20:00). Животные контрольной группы получали эквивалентные количества воды.

С первого дня и на протяжении 14 суток эксперимента животные ежедневно в 10:00 через 2 часа после утренней интоксикации этанолом получали НАМ, НР или НМН в дозах по 2,05 ммоль/кг/сутки. Субстанции вводили внутрижелудочно в 2% крахмале. Животные в группах «Контроль» и «ХАИ» получали эквивалентные количества 2% крахмала вместо препаратов.

По истечении 14 суток эксперимента после 12-часовой пищевой депривации (с сохранением свободного доступа к воде) животных подвергали эвтаназии путем декапитации [8]. После чего собирали образцы крови и выделяли печень без перфузирования на льду ($0-4^\circ\text{C}$). Образец из левой латеральной доли немедленно замораживали в жидком азоте для последующего определения коферментов и биохимических исследований. До анализа образцы хранились при -82°C . Образец из правой медиальной доли фиксировали по Бродскому для гистологического исследования.

Сыворотку крови получали центрифугированием при $3000 \text{ g} \times 15$ минут. В сыворотке определяли активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП) с помощью клинико-диагностических наборов реагентов «АнализМед» (Беларусь) согласно инструкциям производителя.

Содержание НАД и НАДН в ткани печени определяли ферментативным циклическим методом Nisselbaum и Green [9]. Биохимические исследования тканей печени проводили в безядерных гомогенатах, которые готовили на 1,15% растворе KCl с 50 мМ Трис-НСl, pH 7,4, в соотношении 1:10.

Активность алкогольдегидрогеназ (АДГ) в печени оценивали по Nakajima [10] в нашей модификации [11]. Активность альдегиддегидрогеназ (АльдГ) определялась по Totmar [12]. Для оценки антиоксидантной системы печени определяли содержание восстановленного глутатиона (GSH) по Ellman [13] и активности ферментов антиоксидантной защиты – глутатионпероксидазы (ГПО) [14], глутатионпероксидазы (ГПО) [15], супероксиддисмутазы (СОД) [16] и каталазы [17]. Для оценки интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени определяли количества соединений, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) [18]. Содержание белка по Bradford [19].

Для гистологического исследования зафиксированные образцы тканей печени промывали от фиксатора, обезвоживали в этаноле и заключали в парафин. Срезы (4,5 мкм) окрашивали гематоксилином и эозином [20]. Изучение гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа DM6B с камерой DFC295 (Leica, Германия). Анализ цифровых снимков проводили с помощью программного обеспечения ImageJ (National Institutes of Health, США).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием ПО Prism 8.0 (GraphPad, США). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, а однородность дисперсий – критерия Левена. Для выявления значимых различий между группами применяли однофакторный дисперсионный анализ с *post-hoc* тестом Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего значения.

Результаты и обсуждение

ХАИ вызывала развитие выраженного цитолитического синдрома, что проявлялось статистически значимым повышением активности маркерных ферментов в сыворотке (табл. 1). Наиболее значимый рост был отмечен для АлАТ – на 69,9% по сравнению с группой контроля. Активность АсАТ и ЩФ увеличилась на 21,3% и 22,0% соответственно. Активность ГГТП имела тенденцию к увеличению ($p < 0,1$).

Таблица 1 – Активности маркерных ферментов сыворотки крови крыс при введении предшественников биосинтеза НАД на фоне ХАИ

Table 1 – Serum marker enzyme activity in rats following administration of NAD biosynthetic precursors during chronic alcohol intoxication

Показатель	Группа				
	Контроль	ХАИ	ХАИ+НАМ	ХАИ+НР	ХАИ+НМН
АлАТ, Ед/л	31,71±2,28	53,86±1,91 ^A	41,92±1,55 ^A	32,63±1,31 ^B	28,33±1,26 ^B
АсАТ, Ед/л	59,09±1,42	71,68±1,79 ^A	63,77±1,52 ^B	56,89±2,04 ^B	51,37±1,01 ^B
ЩФ, Ед/л	48,14±1,08	58,75±1,29 ^A	53,97±0,82 ^B	49,72±1,38 ^B	52,99±2,35 ^B
ГГТП, Ед/л	4,85±0,45	5,32±0,57	5,02±0,34	4,84±0,62	4,76±0,60

Примечания – здесь и далее в таблицах – А – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе, В – $p < 0,05$ по отношению к группе ХАИ.

В группе ХАИ+НАМ наблюдалась частичная нормализация биохимических показателей – активность АлАТ увеличивалась только на 32,2%, активность ЩФ – на 12,1% по сравнению с контрольными животными (на уровне тенденции, $p < 0,1$). Активности ГГТП и АсАТ были на уровне контрольной группы.

В группах, получавших НР и НМН, активность всех исследуемых ферментов сыворотки крови не отличалась от контрольных значений, а в группе НМН отмечалась тенденция к снижению активностей АлАТ, АсАТ и ГГТП ниже уровня контрольной группы.

Гистологический анализ ткани печени у животных группы ХАИ выявил характерные признаки токсического гепатита: выраженную гидропическую дистрофию гепатоцитов, распространяющуюся на все отделы печеночной дольки, а также значительную очаговую лимфоцитарную инфильтрацию в области большинства портальных трактов и внутри долек (рис. 2А).

Гистологическая картина печени в этих группах, получавших на фоне алкоголизации предшественники НАД, была значительно лучше, чем в группе ХАИ: признаки дистрофии гепатоцитов были слабо выражены и носили очаговый характер, а воспалительная инфильтрация была минимальной (рис. 2Б-Г).

Развитие ХАИ сопровождалось резким нарушением НАД-редокс-гомеостаза (табл. 2). Соотношение НАД/НАДН в ткани печени крыс в группе ХАИ снизилось в 2–2,5 раза по сравнению с контролем. Введение НАМ не приводило к нормализации этого показателя. В то же время введение как НР, так и НМН полностью восстанавливало соотношение НАД/НАДН до уровня, сопоставимого с контрольной группой, причем в группе НМН отмечалась тенденция к его превышению.

На фоне ХАИ было зафиксировано значительное снижение активности ключевых ферментов окисления этанола и ацетальдегида (табл. 3). Активность АДГ в печени снизилась на 50,2%, а снижение активности митохондриальной изоформы АльДГ (с низкой K_m) составило 63,5% к контролю.

В группе ХАИ+НАМ не наблюдалось существенных изменений активности АДГ по сравнению с группой ХАИ, тогда как активность митохондриальной АльДГ была статистически значимо выше (на 77,1%), чем в группе без лечения.

Введение НР и НМН полностью предотвращало индуцированное этанолом снижение активности обоих ферментов. Более того, активности митохондриальной АльДГ в группах НР и НМН превышала показатели группы ХАИ в 2,54 и 3,87 раза соответственно.

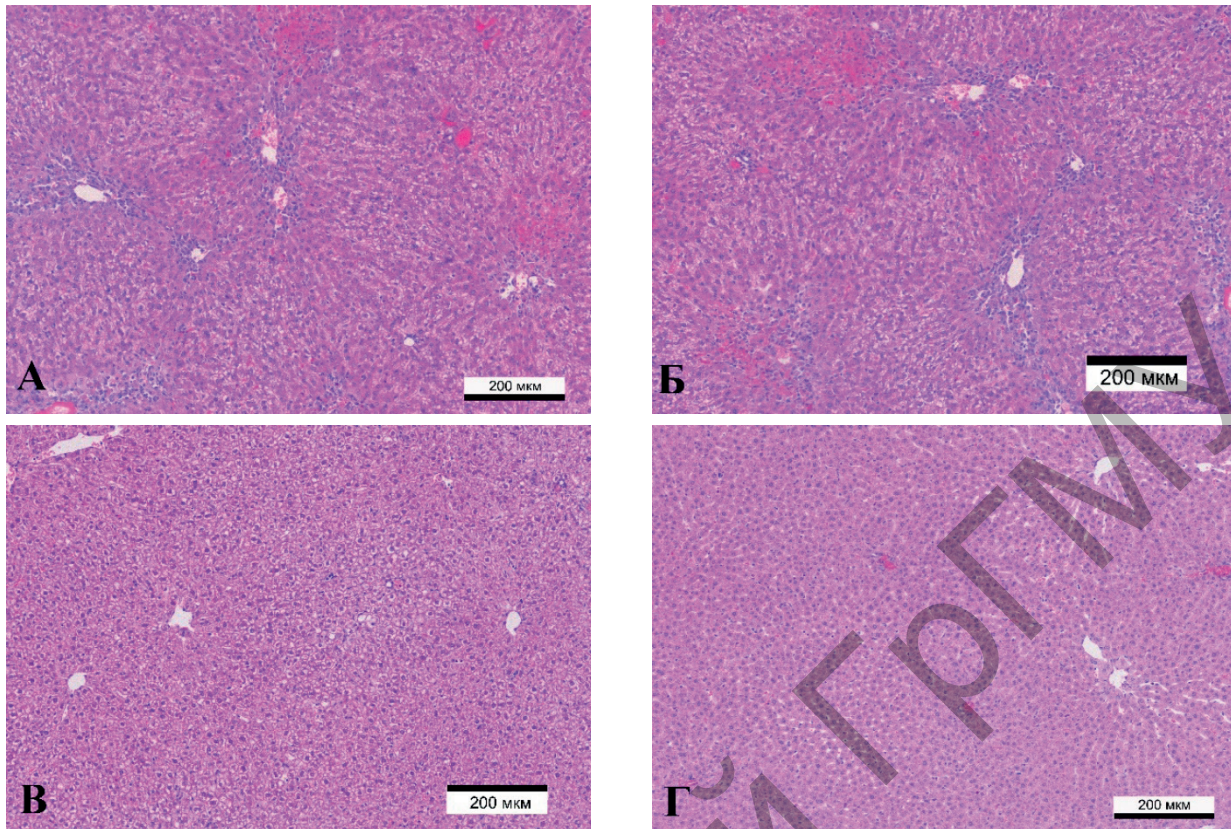


Рисунок 2 – Гистологические изменения печени крыс при хронической алкогольной интоксикации и их коррекция предшественниками биосинтеза НАД. Обозначения: А – ХАИ, Б – ХАИ+НАМ, В – ХАИ+НР, Г – ХАИ+НМН.

Figure 2 – Histological alterations in the rat liver under chronic alcohol intoxication and their modulation by NAD biosynthetic precursors.

Designations: А – Alcohol, Б – Alcohol+NAM, В – Alcohol+NR, Г – Alcohol+NMN

Таблица 2 – Влияние предшественников биосинтеза НАД на соотношение НАД/НАДН в печени крыс при ХАИ (этанол – 10 г/кг/сутки, 14 суток)

Table 2 – Effect of NAD biosynthetic precursors on the hepatic NAD/NADH ratio in rats subjected to chronic alcohol intoxication (ethanol 10 g/kg/day, 14 days)

Группа	НАД/НАДН
Контроль	519,71±26,12
ХАИ	175,70±14,11 ^А
ХАИ+НАМ	210,27±18,26 ^А
ХАИ+НР	492,10±24,11 ^В
ХАИ+НМН	601,18±41,37 ^В

Таблица 3 – Влияние предшественников биосинтеза НАД на активность АДГ и АльДГ с низкой Км к ацетальдегиду (митохондриальной) в печени крыс при ХАИ, нмоль НАДН/минут/мг белка

Table 3. – Effect of NAD biosynthetic precursors on the activity of ADH and mitochondrial ALDH (low Km for acetaldehyde) in rat liver under chronic alcohol intoxication, nmol NADH/min/mg protein

Группа	Активность АДГ	Активность АльДГ
Контроль	10,12±0,90	9,40±0,96
ХАИ	5,04±0,50 ^А	3,43±0,49 ^А
ХАИ+НАМ	4,79±0,85 ^А	6,08±1,22 ^{АВ}
ХАИ+НР	9,21±1,78 ^В	12,15±1,93 ^{АВ}
ХАИ+НМН	11,15±2,51 ^В	16,71±2,99 ^{АВ}

Таблица 4 – Эффекты предшественников биосинтеза НАД на содержание GSH и ТБКРС в печени крыс при ХАИ

Table 4 – Effects of NAD biosynthetic precursors on hepatic GSH and TBARS levels in rats subjected to chronic alcohol intoxication

Группа	GSH, нмоль/мг белка	ТБКРС, нмоль/г ткани
Контроль	5,74±0,26	28,89±0,53
ХАИ	4,74±0,52	33,56±0,95 ^А
ХАИ+НАМ	5,45±0,57	27,71±1,13
ХАИ+НР	6,44±0,33 ^{АВ}	23,00±1,26 ^В
ХАИ+НМН	6,66±0,43 ^{АВ}	23,38±1,26 ^В

ХАИ приводила к развитию окислительного стресса, что подтверждалось снижением уровня GSH на 17,4% и значимым повышением содержания ТБКРС на 16,2% (табл. 4). Параллельно отмечалось снижение активности основных ферментов антиоксидантной защиты: ГР – на 31,0%, ГПО – на 34,3%, СОД – на 36,9% (табл. 5).

Введение на фоне алкогольной интоксикации НАМ нивелировало вызванные ХАИ изменения, поддерживая уровень GSH, ТБКРС и активность антиоксидантных ферментов на уровне контрольной группы.

Таблица 5 – Эффекты предшественников биосинтеза НАД на активность антиоксидантных ферментов в печени крыс при ХАИ**Table 5** – Effects of NAD biosynthetic precursors on antioxidant enzyme activity in rat liver under chronic alcohol intoxication

Показатель	Группа				
	Контроль	ХАИ	ХАИ+НАМ	ХАИ+НР	ХАИ+НМН
ГР, нмоль/минут/мг	131,07±3,9	90,39±3,74 ^A	109,18±5,53 ^{AB}	120,09±3,81 ^B	124,62±1,99 ^B
ГПО, мкМ/минут/мг	117,51±9,33	77,24±8,19 ^A	118,14±12,47	102,93±11,14	125,6±16,24 ^B
СОД, Ед/минут/мг	6,62±0,42	4,18±0,5 ^A	5,01±0,44	5,87±0,35	6,91±0,76 ^B
Каталаза, Ед/минут/мг	10,08±0,65	8,33±0,59	8,8±0,76	8,52±1,02	8,91±0,8

В группах, получавших НР и НМН, зарегистрирован выраженный антиоксидантный эффект: уровень GSH значимо превышал контрольные значения, а концентрация ТБКРС была на 18–21% ниже, чем в группе контроля. Активности ГР, ГПО и СОД также сохранялась на контрольном уровне.

Проведенное исследование демонстрирует, что профилактическое введение предшественников НАД, в особенности НР и НМН, на фоне продолжающейся алкогольной интоксикации эффективно предотвращает развитие комплекса метаболических и структурных повреждений печени. Полученные данные позволяют раскрыть ключевые механизмы, лежащие в основе этого гепатопротекторного действия.

Ключевым и наиболее ранним следствием метаболизма этанола является резкое снижение соотношения НАД/НАДН в гепатоцитах [2, 3]. Наши результаты полностью согласуются с этой парадигмой: в группе ХАИ зафиксировано снижение данного показателя в 2–2,5 раза. Важнейшим открытием работы является то, что НР и НМН не просто смягчали этот дисбаланс, а полностью предотвращали его развитие, что подтверждает высокую эффективность этих соединений как доноров для пула НАД в условиях алкогольной интоксикации. Именно эта способность, по-видимому, и является первоосновой всех наблюдаемых положительных эффектов, поскольку дефицит НАД служит триггером для последующих нарушений в гепатоцитах при ХАИ.

Показано, что дефицит НАД и накопление ацетальдегида ведут к подавлению активности ключевых ферментов окисления этанола – АДГ и, в особенности, митохондриальной АльДГ. Наблюдаемое при ХАИ снижение активности ферментов окисления этанола и ацетальдегида, вероятно, обусловлено комплексом механизмов. К ним относятся ковалентная модификация белков ацетальдегидом и конечными продуктами ПОЛ – 4-гидроксиноненалем и малоновым диальдегидом, окислительная модификация активными формами кислорода и азота, утрата кофактора с последующей деградацией апофермента [21, 22].

В эксперименте наблюдалось выраженное ингибирование обоих ферментов. Умеренный защитный эффект НАМ в отношении АльДГ, вероятно, связан с его низкой эффективностью как предшественника биосинтеза НАД. Однако мощное действие НР и НМН, которое проявля-

лось не только в сохранении, но и в превышении активности митохондриальной АльДГ выше контрольного уровня указывает на комплексный механизм. Помимо прямого восполнения уровней НАД, вероятно, происходит активация НАД-зависимых деацетилаз (SIRT1, SIRT3), играющих ключевую роль в поддержании функциональной целостности митохондриальных ферментов и подавлении окислительного стресса. Высокая активность АльДГ критически важна для предотвращения накопления ацетальдегида – основного токсина, ответственного за образование белковых аддуктов, запуск ПОЛ и истощение антиоксидантной системы.

Обнаруженное в эксперименте снижение уровня GSH, активностей ГР, ГПО, СОД и рост уровня ТБКРС четко характеризует развитие окислительного стресса при ХАИ. Введение НР и НМН не только нивелировало эти изменения, но и вызывало выраженный антиоксидантный отклик, проявлявшийся в снижении уровня ТБКРС ниже контрольных значений и повышении концентрации GSH. Выраженное антиоксидантное действие НР и НМН можно объяснить несколькими механизмами. Во-первых, усиление детоксикации ацетальдегида за счет предотвращения снижения активности АльДГ снижает его прооксидантное действие. Во-вторых, восстановление пула НАД напрямую влияет на работу глутатионовой системы, поскольку НАДФН, необходимый для восстановления глутатиона ГР, генерируется через пентозофосфатный путь, активность которого зависит от НАД-редокс-статуса. В-третьих, активация SIRT1 и SIRT3 способствует экспрессии генов антиоксидантной защиты и улучшает функцию митохондрий, минимизируя «утечку» электронов.

Проведенное сравнение выявило четкую градацию в эффективности изучаемых соединений – НМН>НР>НАМ. Умеренный эффект НАМ согласуется с литературными данными о его способности ингибировать сиртуины и ограниченном потенциале для значимого повышения уровня НАД *in vivo*. В свою очередь, НР и НМН, используя более эффективные пути биосинтеза НАД, демонстрируют способность к быстрому восстановлению клеточного пула НАД, что и обусловило их максимальную протекторную активность в эксперименте.

Таким образом, результаты настоящей работы позволяют заключить, что профилактиче-

ская стратегия, направленная на поддержание НАД-редокс-гомеостаза с помощью высокоэффективных предшественников биосинтеза НАД, таких как НР и НМН, прерывает патогенетический каскад алкогольного повреждения печени на самых ранних этапах. Основными механизмами этого действия являются предотвращение дефицита НАД, сохранение и усиление активности ферментов метаболизма этанола, в первую очередь митохондриальной АльДГ, что ограничивает накопление ацетальдегида. Также вероятно активация НАД-зависимых сигнальных путей, ведущая к усилению системы антиоксидантной защиты и снижению интенсивности ПОЛ.

Выводы

На основании полученных данных сделаны следующие выводы:

1. Установлено, что НР и НМН проявляют выраженный гепатопротекторный эффект в условиях ХАИ, существенно превосходя по эффективности НАМ;

2. Основным механизмом выявленного защитного действия является способность НР и

НМН эффективно предотвращать развитие алкоголь-индуцированного дисбаланса НАД/НАДН в ткани печени, тем самым прерывая патогенетическую цепь повреждения гепатоцитов алкоголем на ранней стадии;

3. Восстановление НАД-редокс-статуса при введении НР и НМН обеспечивает сохранение активностей ферментов детоксикации этанола и ацетальдегида, в первую очередь митохондриальной АльДГ, что предотвращает накопление токсичного ацетальдегида;

4. Профилактическое введение НР и НМН полностью купирует развитие окислительного стресса при ХАИ, что подтверждается нормализацией активностей антиоксидантных ферментов (СОД, ГР, ГПО), повышением уровня GSH и значительным снижением содержания продуктов ПОЛ.

Полученные результаты обосновывают перспективность применения НР и НМН в качестве компонентов для разработки профилактических средств, направленных на предупреждение развития алкоголь-индуцированных поражений печени.

Литература

1. Alcohol-associated liver disease-Global epidemiology / F. Åberg, Z.G. Jiang, H. Cortez-Pinto, V. Männistö // *Hepatology*. – 2024. – Vol. 80, № 6. – P. 1307-1322. – doi: 10.1097/HEP.0000000000000899.
2. Сутько, И. П. Роль изоформ цитохрома P450 эндоплазматического ретикулума гепатоцитов в метаболизме этанола / И. П. Сутько, И. Н. Семенова, А. Г. Шляхтун // *Гепатология и гастроэнтерология*. – 2021. – Т. 5, № 2. – С. 132-137. – doi: 10.25298/2616-5546-2021-5-2-132-137. – edn: JGQFMR.
3. Autophagy, oxidative stress, and alcoholic liver disease: a systematic review and potential clinical applications / D. Salete-Granado, C. Carbonell, D. Puertas-Miranda [et al.] // *Antioxidants (Basel)*. – 2023 – Vol. 12, № 7. – Art. 1425. – doi: 10.3390/antiox12071425.
4. French, S. W. Chronic alcohol bingeing injures the liver and other organs by reducing NAD levels required for sirtuin's deacetylase activity / S. W. French // *Exp. Mol. Pathol.* – 2016. – Vol. 100, № 2. – P. 303-306. – doi: 10.1016/j.yexmp.2016.02.004.
5. Mechanism of inhibition of the human sirtuin enzyme SIRT3 by nicotinamide: computational and experimental studies / X. Guan, P. Lin, E. Knoll, R. Chakrabarti // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, № 9. – Art. e107729. – doi: 10.1371/journal.pone.0107729.
6. The role of NAD metabolism and its modulation of mitochondria in aging and disease / K. Yusri, S. Jose, K. S. Vermeulen [et al.] // *NPJ Metab Health Dis*. – 2025. – Vol. 3, № 1. – Art. 26. – doi: 10.1038/s44324-025-00067-0.
7. Liu, R. A novel preparation of nicotinamide mononucleotide / R. Liu, J. Visscher // *Nucleosides Nucleotides*. – 1994. – Vol. 13, № 5. – P. 1215-1216. – doi: 10.1080/15257779408011891.
8. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission / B. Close, K. Banister, V. Baumans [et al.] // *Lab Anim*. – 1996. – Vol. 30, № 4. – P. 293-316. – doi:10.1258/002367796780739871.
9. Nisselbaum, J. S. A simple ultramicro method for determination of pyridine nucleotides in tissues / J. S. Nisselbaum, S. Green // *Anal Biochem*. – 1969. – Vol. 27, № 2. – P. 212-217. – doi: 10.1016/0003-2697(69)90025-6.
10. Abnormal ethanol metabolism in Long-Evans cinnamon rats, a mutant strain developing spontaneous hepatoma / M. Nakajima, J. Kato, Y. Kohgo [et al.] // *Alcohol. Alcohol Suppl*. – 1993. – Vol. 1B. – P. 105-108. – doi: 10.1093/alcalc/28.supplement_1b.105.
11. Активность систем метаболизма спиртов и альдегидов печени крыс при тяжелой алкогольной интоксикации и коррекции комбинацией сукцината натрия, ацетилцистеина и ресвератрола / А. Г. Шляхтун, Е. В. Каспер, Е. В. Богдевич [и др.] // *Вестник ГрДУ імя Янкі Купалы. Сер. 5. Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія*. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 126-132. – edn: NCERMS.
12. 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.
13. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys*. – Vol. 82, № 1. – P. 70-77. – doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
14. Carlberg, I. Glutathione reductase / I. Carlberg, B. Mannervik // *Methods Enzymol*. – 1985. – Vol. 13. – P. 484-490. – doi: 10.1016/s0076-6879(85)13062-4.
15. Paglia, D. E. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase / D. E. Paglia, W. N. Valentine // *J. Lab. Clin. Med*. – 1967. – Vol. 70, № 1. – P. 158-169.
16. Ewing, J. F. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generator / J. F. Ewing, D. R. Janero // *Anal. Biochem*. – 1995. – Vol. 232, № 2. – P. 243-248. – doi: 10.1006/abio.1995.0014.
17. Hadwan, M. H. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissue / M. H. Hadwan // *BMC Biochem*. – 2018. – Vol. 19, № 1. – Art. 7. – doi: 10.1186/s12858-018-0097-5.
18. Janero, D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and

- peroxidative tissue injury / D. R. Janero // *Free Radic. Biol. Med.* – 1990. – Vol. 9, № 6. – P. 515-540. – doi: 10.1016/0891-5849(90)90131.
19. 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. – doi: 10.1006/abio.1976.9999.
 20. Gamble, M. The hematoxylin and eosin / M. Gamble // *Theory and practice of histological techniques* / ed.: J. D. Bancroft, M. Gamble. – 6th edn. – Edinburgh, 2008. – P. 121-134.
 21. Hasumura, Y. Acetaldehyde oxidation by hepatic mitochondria: decrease after chronic ethanol consumption / Y. Hasumura, R. Teschke, C. S. Lieber // *Science.* – 1975. – Vol. 189, № 4204. – P. 727-729.
 22. Teschke, R. Alcoholic liver disease: alcohol metabolism, cascade of molecular mechanisms, cellular targets, and clinical aspects / R. Teschke // *Biomedicines.* – 2018. – Vol. 6, iss. 4. – Art. 106. – doi: 10.3390/biomedicines6040106.
- References**
1. Åberg F, Jiang ZG, Cortez-Pinto H, Männistö V. Alcohol-associated liver disease-Global epidemiology. *Hepatology.* 2024;80(6):1307-1322. doi: 10.1097/HEP.0000000000000899.
 2. Sutko IP, Semeneya IN, Shlyakhtun AG. The role of cytochrome P450 isoforms of the hepatocyte endoplasmic reticulum in ethanol metabolism. *Hepatology and gastroenterology.* 2021;5(2):132-137. doi: 10.25298/2616-5546-2021-5-2-132-137. edn: JGQFMR. (Russian).
 3. Saletе-Granado D, Carbonell C, Puertas-Miranda D, Vega-Rodríguez VJ, García-Macia M, Herrero AB, Marcos M. Autophagy, Oxidative Stress, and Alcoholic Liver Disease: A Systematic Review and Potential Clinical Applications. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(7):1425. doi: 10.3390/antiox12071425.
 4. French SW. Chronic alcohol binge injures the liver and other organs by reducing NAD⁺ levels required for sirtuin's deacetylase activity. *Exp Mol Pathol.* 2016;100(2):303-306. doi: 10.1016/j.yexmp.2016.02.004.
 5. Guan X, Lin P, Knoll E, Chakrabarti R. Mechanism of inhibition of the human sirtuin enzyme SIRT3 by nicotinamide: computational and experimental studies. *PLoS One.* 2014;9(9):e107729. doi: 10.1371/journal.pone.0107729.
 6. Yusri K, Jose S, Vermeulen KS, Tan TCM, Sorrentino V. The role of NAD⁺ metabolism and its modulation of mitochondria in aging and disease. *NPJ Metab Health Dis.* 2025;3(1):26. doi: 10.1038/s44324-025-00067-0.
 7. Liu R, Visscher J. A novel preparation of nicotinamide mononucleotide. *Nucleosides Nucleotides.* 1994;13(5):1215-1216. doi: 10.1080/15257799408011891.
 8. Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Lab Anim.* 1996;30(4):293-316. doi: 10.1258/002367796780739871.
 9. Nisselbaum JS, Green S. A simple ultramicro method for determination of pyridine nucleotides in tissues. *Anal Biochem.* 1969;27(2):212-217. doi: 10.1016/0003-2697(69)90025-6.
 10. Nakajima M, Kato J, Kohgo Y, Katsuki S, Inui N, Ohya M, Takeichi N, Niitu Y. Abnormal ethanol metabolism in Long-Evans Cinnamon rats, a mutant strain developing spontaneous hepatoma. *Alcohol. Alcohol Suppl.* 1993;1B:105-8. doi: 10.1093/alcalc/28.supplement_1b.105.
 11. Shlyakhtun AG, Kasper EV, Bogdevich EV, Raduta EF, Sutko IP, Marchik AI. Activity of alcohol and aldehyde metabolism systems in the rat liver under severe alcohol intoxication and correction with a combination of sodium succinate, acetylcysteine and resveratrol. *Vesnik of Yanka Kupala State University of Grodno. Series 5, Economics. Sociology. Biology.* 2021;11(3):126-132. edn: NCERMS. (Russian).
 12. Tottmar O, Pettersson H, Kiessling KH. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Biochem J.* 1973;135:577-586. doi: 10.1042/bj1350577a.
 13. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 1959;82(1):70-77. doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
 14. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol.* 1985;113:484-490. doi: 10.1016/s0076-6879(85)13062-4.
 15. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70(1):158-169.
 16. Ewing JF, Janero DR. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generator. *Anal Biochem.* 1995;232(2):243-248. doi: 10.1006/abio.1995.0014.
 17. Hadwan MH. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissue. *BMC Biochem.* 2018;19(1):7. doi: 10.1186/s12858-018-0097-5.
 18. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990;9(6):515-540. doi: 10.1016/0891-5849(90)90131.
 19. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999.
 20. Gamble M. The hematoxylin and eosin. In: Bancroft JD, Gamble M, editors. *Theory and practice of histological techniques.* 6th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2008. p. 121-134.
 21. Hasumura Y, Teschke R, Lieber CS. Acetaldehyde oxidation by hepatic mitochondria: decrease after chronic ethanol consumption. *Science.* 1975;189(4204):727-729.
 22. Teschke R. Alcoholic liver disease: alcohol metabolism, cascade of molecular mechanisms, cellular targets, and clinical aspects. *Biomedicines.* 2018;6(4):106. doi: 10.3390/biomedicines6040106.

NORMALIZATION OF NAD REDOX BALANCE AS A STRATEGY FOR PREVENTING ALCOHOL-INDUCED HEPATOTOXICITY: PRECLINICAL EVALUATION

A. H. Shlyahun¹, A. A. Astrowski¹, A. F. Raduta¹, I. P. Sutsko²

¹Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

²Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

Background. Chronic ethanol intake disrupts hepatic NAD redox homeostasis, representing a critical mechanism in the pathogenesis of alcohol-induced liver injury. Restoration of the NAD pool is increasingly recognized as a promising preventive strategy of alcoholic liver disease.

The objective of this study was to evaluate the preventive efficacy of NAD biosynthesis precursors (nicotinamide, nicotinamide riboside, and nicotinamide mononucleotide) against the development of liver damage in a model of chronic alcohol intoxication.

Material and Methods. Mature male Wistar rats were administered 30% ethanol (10 g/kg/day) for 14 days, with concurrent treatment using NAD biosynthetic precursors at 2.05 mmol/kg/day. The evaluation included serum biochemical parameters, hepatic histology, activities of ethanol-metabolizing and antioxidant enzymes, NAD/NADH ratios, and markers of oxidative stress.

Results. NAD biosynthetic precursors markedly attenuated elevated serum markers, histopathological alterations, and oxidative stress, while restoring the NAD/NADH balance and normalizing the activities of ethanol- and acetaldehyde-metabolizing enzymes.

Conclusion. Prophylactic administration of nicotinamide riboside and nicotinamide mononucleotide mitigates alcohol-induced liver injury by restoring NAD redox balance, promoting acetaldehyde detoxification, and attenuating oxidative stress.

Keywords: alcoholic liver disease, hepatoprotectant, nicotinamide adenine dinucleotide, nicotinamide, nicotinamide riboside, nicotinamide mononucleotide

For citation: Shlyahun AH, Astrowski AA, Raduta AF, Sutsko IP. Normalization of NAD redox balance as a strategy for preventing alcohol-induced hepatotoxicity: preclinical evaluation. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2026;24(1):60-67. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2026-24-1-60-67>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследования проведены в рамках научно-исследовательской работы «Исследовать гепатопротекторную активность метаболитических предшественников никотинамидадениндинуклеотида при алкогольной интоксикации» (№ гос. регистрации 20210990) по заданию 4.1.2.3. подпрограммы «Экспериментальная медицина» государственной программы научных исследований «Трансляционная медицина» на 2021–2025 годы (договор № 03/21/2021-29-018 от 17.02.2021).

Financing. This study was carried out within the framework of the research project "Investigation of the hepatoprotective activity of nicotinamide adenine dinucleotide metabolic precursors in alcohol intoxication" (Reg. No 20210990), under assignment No. 4.1.2.3 of the subprogram "Experimental Medicine" of the state program of scientific research "Translational Medicine" for 2021–2025 (contract No. 03/21/2021-29-018, dated February 17, 2021).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

*Шляхтун Алексей Генрихович / Shlyahun Alexej; e-mail: shlyahun@ibiochemistry.by, ORCID: 0000-0002-7618-9589

Островский Александр Александрович / Astrowski Alexander, ORCID: 0000-0001-8647-3922

Радута Елена Францевна / Raduta Alena, ORCID: 0000-0001-8020-1838

Сутько Ирина Петровна / Sutsko Iryna, ORCID: 0000-0001-9599-6944.

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 25.11.2025

Принята к публикации / Accepted for publication: 23.01.2026