УДК 57.085.23

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «КОНФУМИН» В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК В СОСТОЯНИИ ГИПОКСИИ

БЕЛЯКОВ Д.Ю.[1], ПОПОВ Д.Ю.[1], ЗАКРЖЕВСКАЯ В.Д.[1], ГУСЕЙНОВ Р.Г.[2,3,4], СИВАК К.В.[2,5], ПЕРЕПЕЛИЦА В.В.[2,3], ВИНОКУРОВ А.Ю.[1], ПОПОВ С.В.[2,3]

[1]Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия, elderly_fighter@vk.com

[2] СПб ГБУЗ Клиническая больница Святителя Луки, г. Санкт-Петербург, Россия

[3] ЧОУВО «СПбМСИ», г. Санкт-Петербург, Россия

[4] Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

[5] ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева», г. Санкт-Петербург, Россия

В современной хирургической практике при проведении операции частичной нефрэктомии на ранних стадиях развития рака почки может быть использована процедура тепловой ишемии, снижающая кровопотери и улучшающая визуализацию операционного поля, но приводящая к развитию кислородной недостаточности в результате ограничения кровоснабжения органа. Для повышения выживаемости клеток во время операции, когда ее продолжительность является ключевым фактором, применяются препараты с антигипоксическими свойствами, например, раствор для инфузий «Конфумин». На сегодняшний день информация о порядке применения препарата до и после операции, его дозировке, возможной длительности тепловой ишемии требует уточнения на основе понимания механизма нефропротекторного действия, что определяет значительную актуальность настоящей работы.

Считается, что препарат, фармакологически активным компонентом которого является фумарат натрия, позволяет клеткам синтезировать АТФ в условиях недостатка кислорода. Однако проведенные нами эксперименты *in vitro* не подтверждают однозначность такого механизма. На культуре клеток MDCK показано, что в условиях гипоксии, смоделированной с применением связывающего растворенный кислород дитионита натрия, комплекс V электронтранспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий характеризуется инверсным режимом работы, транспортируя протоны водорода из матрикса митохондрий в межмембранное пространство с расходованием АТФ. Хотя добавление фумарата натрия и обеспечивает возможность частичного окисления NADH за счет создания условий для работы комплекса I ЭТЦ, это незначительно влияет на нормализацию механизма поддержания митохондриального мембранного потенциала ($\Delta\Psi m$), что находит отражение в деполяризации митохондрий после обработки клеток ингибитором АТФ-синтазы олигомицином А. Поиск альтернативных объяснений обусловленной фумаратом натрия защиты клеток почек показал, что она может быть связана с активацией естественных внутриклеточных процессов в результате стабилизации индуцируемого гипоксией фактора HIF1α. В условиях нормоксии HIF1α гидроксилируется пролилгидроксилазами (PHD) и подвергается протеосомной деградации. При гипоксии происходит ингибирование PHD, что приводит к стабилизации HIF1α и последующей активации транскрипции защитных генов. Однако известно, что накопление HIF1α возможно и в условиях нормоксии, в частности, в результате влияния повышенной продукции активных форм кислорода, накопления сукцината и/или фумарата, L-2-HG, которые могут ингибировать активность PHD и вызывать состояние псевдогипоксии. В подтверждение данной гипотезы нами экспериментально показано, что обработка клеток препаратом «Конфумин» в условиях нормального содержания кислорода приводит к увеличению $\Delta\Psi m$, изменению скорости продукции АФК и уровня митофагии, а также снижению pH цитозоля, что свидетельствует о возможном ингибировании PHD и стабилизации HIF1α, приводящем к увеличению роли гликолиза в обеспечении энергетических потребностей клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ № 075-15-2022-1095.

© Беляков Д.Ю., Попов Д.Ю., Закржевская В.Д., Гусейнов Р.Г., Сивак К.В., Перепелица В.В., Винокуров А.Ю., Попов С.В., 2023