

УДК 57.083.3

## РОЛЬ НУКЛЕОТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ И NO-СИНТАЗ В ИМУННОЙ ЗАЩИТЕ ОРГАНИЗМА

В.С. Орлова<sup>1</sup>, Е.В. Орлова<sup>2\*</sup>, А.М. Стойнова<sup>1</sup>, Я.М. Станишевский<sup>1</sup>

**Резюме.** Данная статья описывает возможность использования полученных из биологических объектов нуклеотидов и нуклеозидов (в том числе из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*), а также их различных производных в практической медицине при лечении заболеваний или для коррекции патологически измененных метаболических процессов в организме при воздействии неблагоприятных факторов.

**Ключевые слова:** нуклеотиды, нуклеозиды, дрожжи.

### THE ROLE OF NUCLEOTIDE SUBSTANCES AND NO-SYNTASE IN THE IMMUNE PROTECTION OF THE ORGANISM

V.S. Orlova<sup>1</sup>, E.V. Orlova<sup>2\*</sup>, A.M. Stoinova<sup>1</sup>, Ya.M. Stanishevskiy<sup>1</sup>

**Abstract.** The present article describes the biochemical mechanisms and the possibility of nucleotides and nucleosides substances naturally produced (i.e. *Saccharomyces cerevisiae* and others) medicine application in field of correction of pathologically altered metabolic processes in the body under the influence of adverse factors.

**Keywords:** nucleotides, nucleosides, yeasts.

1 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

2 – ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН (ИТЭБ РАН), 142290, Россия, г. Пущино, ул. Институтская, 3

1 – Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – Institute of Theoretical and Experimental Biophysics (ITEB) RAS, 3, Institutskaya str., Puschino, Moscow District, 142290, Russia

\* адресат для переписки:

E-mail: eaglson@mail.ru

Тел.: 8(499) 936-85-99

## ВВЕДЕНИЕ

Среди важнейших внутриклеточных компонентов особое положение занимают вещества нуклеотидной природы, которые в качестве кофакторов и в составе ДНК и РНК участвуют в таких жизненно важных процессах живых организмов, как биосинтез белков, регуляция биохимических процессов, энергетического обмена, иммунитета и функционирования наследственного аппарата. В настоящее время существенно возрос интерес к поиску и разработке лекарственных препаратов на основе природных нуклеотидов, которые могут стать эффективными средствами регуляции различных функций организма и метаболической терапии [1].

Известна также ключевая роль некоторых нуклеотидов в синтезе оксида азота – NO, которому принадлежит важная роль в регуляции многих биохимических процессов, в частности активировании гуанилатциклазы, фосфолипазы C, влиянии на синтез инсулина, адреналин- и дофаминергическую системы. Кроме того, NO является нейротрансмиттером и веществом, участвующим в регуляции артериального давления, иммунореактивности и многих других важных физиологических процессов [1].

В связи с тем, что влияние нуклеотидов на синтез NO в организме осуществляется путем изменения активности NO-синтаз (NOS), в частности, Ca<sup>2+</sup>-зависимой NO-синтазы, поиск препаратов, влияющих на активность NOS, является одной из актуальных задач современной биологии и медицины.

Наше внимание привлекла возможность получения нуклеотидных препаратов из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, которые, по данным [2], обладают выраженной биологической активностью, низкой токсичностью и перспективны для разработки на их основе лекарственных препаратов для повышения иммунореактивности организма, коррекции метаболических нарушений и нормализации физиологических процессов при развитии ряда патологических состояний.

Нуклеотиды и нуклеозиды являются универсальными биомолекулами, которые присутствуют во всех клетках животных и растительных организмов, в качестве коферментов принимают участие во многих жизненно важных обменных и регуляторных процессах, являются структурными единицами нуклеиновых кислот, участвуют в хранении, передаче и реализации генетической информации.

В этой связи возможность использования полученных из биологических объектов нуклеотидов и нуклеозидов, а также их различных производных в практической медицине при лечении заболеваний или для коррекции патологически измененных метаболических процессов в организме при воздействии неблагоприятных факторов привлекает пристальное внимание исследователей [1].

## ПРИМЕНЕНИЕ НУКЛЕОТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТЕРАПИИ

Нуклеотидные препараты стимулируют иммунореактивность и поэтому применяются при терапии ретровирусных инфекций [3], кроме того, присутствие в нуклеотидных препаратах других клеточных метаболитов (витамины, свободные аминокислоты) позволяет использовать эти препараты для неспецифической стимулирующей терапии при хронических воспалительных заболеваниях, в качестве адаптогенов, а также при патологических состояниях различного генеза, сопровождающихся оксидативным стрессом [4].

В последние годы химически модифицированные нуклеотиды и нуклеозиды все шире используются при лечении многих вирусных заболеваний, в том числе вызванных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), так как установлено, что механизм их противовирусного действия обусловлен ингибированием обратной вирусной транскриптазы [5]. Показано также, что нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ) приобретают противовирусную активность только после их фосфорилирования. Фосфорилированные НИОТ конкурируют с природными дезоксирибонуклеозидтрифосфатами (нуклеозидами), и встраивание фосфорилированных НИОТ в вирусную ДНК обрывает ее дальнейший синтез.

Устойчивость к НИОТ определяется двумя основными механизмами. При первом из них в результате мутации создается *стерическое препятствие* к распознаванию обратной транскриптазой различий между нуклеозидами и их аналогами; в результате вместо НИОТ в вирусную ДНК начинают встраиваться обычные нуклеозиды. Такой механизм имеет место, например при мутации M184V [6].

Второй механизм – *фосфорилиз* АТФ или пирофосфата, в результате которого из растущей цепи ДНК элиминируется уже встроенный НИОТ. Этот механизм опосредуется мутациями M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y и K219Q [6].

Препараты нуклеотидной природы нашли практическое применение в качестве средств иммуностимулирующей терапии. Из них наиболее широкое распространение получил нуклеинат натрия.

Коммерческий препарат «Натрия нуклеинат» – натриевая соль низкомолекулярной РНК из пекарских дрожжей, – представляет собой белый порошок с кремоватым или сероватым оттенком. Легко растворим в воде с образованием опалесцирующего раствора. «Нуклеинат натрия» увеличивает фагоцитарную активность, активизирует поли- и мононуклеары, усиливает эффективность антимикробного действия тетрациклинов при смешанной инфекции, вызванной стафилококком и синегнойной палочкой [7].

При профилактическом введении «Нуклеинат натрия» проявляет противовирусную активность, так как обладает выраженными интерферогенными свойствами [7].

«Нуклеинат натрия» улучшает формирование прививочного иммунитета, увеличивает его качество и позволяет снижать дозировку вакцин. Препарат оказывает позитивный эффект при лечении больных с вирусным паротитом, различными формами респираторных вирусных инфекций и хроническим воспалением легких. «Нуклеинат натрия» увеличивает содержание РНК и белка в макрофагах в 1,5 раза и гликогена в 1,6 раза, увеличивает активность лизосомальных ферментов и завершенность фагоцитоза макрофагами. Под влиянием препарата увеличивается содержание лизоцима и нормальных антител, если их уровень был снижен [7]. Из побочных эффектов, характерных для «Нуклеината натрия» при парентеральном введении, следует отметить аллергические реакции из-за наличия в нем материала РНК.

Особое место среди препаратов нуклеиновых кислот занимает иммунная РНК макрофагов, которая представляет собой информационную РНК, вносящую в клетку фрагмент антигена, и под его влиянием развивается неспецифическая стимуляция иммунокомпетентных клеток нуклеотидами. Неспецифическими стимуляторами являются синтетические двухцепочечные полинуклеотиды, которые стимулируют антителообразование, усиливают антигенный эффект неиммуогенных доз антигена, обладающего противовирусными свойствами, связанными с индукцией интерферонов [4]. Их механизм действия сложен и недостаточно изучен. Установлено, что данные препараты включаются в систему регуляции синтеза белка в клетке, активно взаимодействуя с клеточной мембраной [8].

Большое применение нуклеотидные производные, а именно адениновые нуклеотиды, нашли в кардиологической практике [9]. Впервые лечебные эффекты внутривенного введения адениновых нуклеотидов (АН) при нарушениях сердечного ритма были описаны в 1929 г. А.Н. Drury и G.A. Szent [10]. Уже в 1930 г. R.M. Honey и соавторы [11] сообщили о предполагаемых механизмах положительного действия аденозина (Ад) при нарушениях ритма сердца у человека. Вместе с тем эпоха широкого клинического применения АН

началась с 1955 г. и продолжалась в течение последующих двадцати лет, АН использовались в кардиологии исключительно для купирования ПТ [12].

Высокая стоимость АН-препаратов, сравнительно низкая эффективность, наличие побочных реакций (тошнота, рвота, снижение артериального давления, увеличение температуры тела, нарушение функции печени, лимфопения) и отсутствие надежных схем использования привели к ограничению их применения.

В связи с расширением знаний, полученных при изучении патогенеза многих заболеваний, было установлено, что их возникновение сопровождается активацией свободнорадикальных реакций перекисного окисления липидов и что нуклеотидные препараты оказались эффективными при терапии состояний, сопряженных с оксидативным стрессом [13].

Для понимания обоснованности клинического применения нуклеотидных препаратов при лечении ряда заболеваний, сопровождающихся оксидативным стрессом, представляется целесообразным рассмотреть механизмы его возникновения и систему антиоксидантной защиты организма.

## **МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА**

В нормальном состоянии функционирования организма скорость свободнорадикальных реакций (СРР) перекисидации липидов клеточных мембран и липопротеидов относительно мала, что обусловлено низким уровнем образования радикалов-инициаторов и действием сбалансированной системы антиоксидантной защиты [14]. Однако в процессе возникновения, развития воспалительных и ряда других заболеваний это равновесие нарушается, резко возрастает продукция радикалов-инициаторов и наблюдается инактивация системы антиоксидантной защиты, развивается так называемый оксидативный стресс [15].

Образующиеся в клетке радикалы могут инициировать другие реакции, вступая во взаимодействие с различными клеточными компонентами: белками, нуклеиновыми кислотами, липидами и др. [15] (рисунок 1).

В результате этих реакций происходит деградация молекул-мишеней с образованием более или менее стабильных продуктов реакций, идентификация и определение количества которых могут быть показателями, определяющими скорость СРР. Наиболее часто используемым маркером инициации СРР является определение продуктов перекисной деградации



**Рисунок 1.** Взаимодействие радикалов-инициаторов, активных форм кислорода ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^\bullet$ ) с различными компонентами клеток

фосфолипидов клеточных мембран и липопротеидов плазмы крови [16].

Все радикалы, образующиеся в организме как в норме, так и при возникновении и развитии так называемых свободнорадикальных патологий, можно подразделить на две группы: природные и чужеродные. Природные радикалы, в свою очередь, подразделяются по способу их образования и участию в дальнейших реакциях на первичные, вторичные и третичные [17].

Первичные радикалы образуются в реакциях с участием специализированных молекулярных механизмов. Для непосредственного образования вторичных радикалов специальных молекулярных механизмов в клетке нет, и они формируются из первичных радикалов в результате последующих реакций.

Ко вторичным радикалам следует отнести гидроксильный радикал, образующийся из перекиси водорода при участии ионов металлов переменной валентности, и в какой-то мере пероксинитрит ( $ONOO^\bullet$ ), который является продуктом реакции между оксидом азота ( $NO$ ) и супероксидным анион-радикалом кислорода [17].

Вторичные радикалы обладают значительно большей активностью и поэтому могут оказывать более выраженное повреждающее действие. И наконец, к третичным радикалам следует отнести радикалы, которые образуются при взаимодействии первичных и вторичных с молекулами антиоксидантов или каких-либо других легко окисляющихся веществ [18].

Первичные и вторичные радикалы являются в основном продуктами модификации молекулярного кислорода. Молекулярный кислород обычно не вступает в прямые ферментативные химические реакции с органическими соединениями тканей организма. Реакции с участием кислорода в живой клетке чаще всего происходят с участием ферментов – оксидаз. В ходе этих реакций могут образовываться промежуточные свободнорадикальные продукты восстановления кислорода, которые получили название активные формы кислорода (АФК) [19].

- $O_2^-$  – супероксид анион радикал кислорода;
- $^1O_2$  – синглетный кислород;
- $H_2O_2$  – перекись водорода;
- $OH\cdot$  – гидроксильный радикал.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как уже отмечалось, многие патологические процессы протекают в условиях активации СРР перекисного окисления [19] и сопровождаются двумя хорошо контролируруемыми процессами – нарушением микроциркуляции (ишемия) и восстановлением кровотока (реперфузия). Поэтому при описании механизмов активации СРР при различных патологических состояниях рассматривают механизмы продукции АФК в цикле или циклах ишемия – реперфузия (И/Р) [20].

Среди систем или механизмов, обеспечивающих увеличение продукции АФК, способных запускать СРР перекисной модификации липидов клеточных мембран и липопротеидов, следует выделить следующие [15]:

1. Нарушение транспорта электронов в дыхательной цепи митохондрий.
2. Интенсификация синтеза и окисления катехоламинов.
3. Активация системы «ксантин-ксантиноксидаза».
4. Активация фагоцитов.
5. Появление пула каталитически активных ионов металлов переменной валентности.

Следовательно, в процессе возникновения и развития различных патологических состояний, в частности воспалительных заболеваний, или при воздействии ряда физических факторов, например ионизирующих излучений, резко увеличивается активность механизмов, продуцирующих АФК, и концентрация каталитически активных ионов  $Fe^{2+}$  в циркулирующей крови или локально в очаге воспаления [19].

Все это, вместе взятое, приводит к усиленной работе свободных радикалов-инициаторов, способных запускать СРР с участием различных субстратов, в том числе перекисное окисление липидов клеточных мембран, липопопротеидов плазмы крови и сульфгидрильных групп, а также смещение равновесия в системе NO-синтаз: iNOS/ $Ca^{2+}$ -зависимая NOS в сторону iNOS изоформы [21].

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ по программе реализации комплексных проектов по созданию высокотехнологичного производства (постановление Правительства РФ № 218 от 09.04.2010 г., шифр конкурса 2016-218-09). Договор № 03.G25.310258.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дж. Монтеро, А.Б. Данилов. Роль нуклеотидов в лечении периферических нейропатий: обзор // *Manage pain*. 2015. № 4. С. 33–38.
2. В.В. Заерко, Ю.А. Оболенский. Состояние вязкости крови у больных псориазом в процессе лечения производными пурина // *Вестник дерматологии*. 2000. № 3. С. 29–30.
3. Патент № 2245149. Иммуностимулирующие нуклеиновые кислоты / А.М. Криг, К. Шеттер, Й. Фолльмер. – № 2002111006/15; заявл. 25.09.00; опубл. 27.01.05.
4. Н.Б. Серебрянная. Нуклеотиды и нуклеозиды как регуляторы иммунного ответа: от теории к практике // *Аллергология и иммунология*. № 1. Т. 8. 2007.
5. В.Х. Фазылов, В.П. Чуланов. Определение вариантов полиморфизма гена интерлейкина-28В у пациентов с сочетанной инфекцией ХГС/ВИЧ // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. Актуальные вопросы. 2013. № 3. С. 29–32.
6. L.K. Naeger, N. A. Margot. ATP-Dependent Removal of Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors by Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase // *Antimicrob Agents Chemother*. 2002. № 46(7). P. 2179–2184.
7. С. Воронин, А. Гуменюк. Натрия нуклеинат – эффективный иммуномодулятор // *Животноводство России*. 2015. № 7. С. 21.
8. H. Tawarahara, I. Kuraoka, S. Iwai. Facile preparation of a fluorescent probe to detect the cellular ability of nucleotide excision repair // *Analytical Biochemistry*. 2017. V. 526. P. 71–74.
9. О. Лондоно, М.М. Медведев. Адениновые нуклеотиды в современной клинической аритмологии // *Вестник Аритмологии*. 2002. № 29. С. 66–74.
10. A.N. Druri, A. Szent-Georgy. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart // *J. Physiol. (Lond)*. 1929. V. 68. P. 213–237.
11. R.Honey, V.T.Ritchie, W.Thomson. The action of adenosine upon the human heart // *Quart. J. Med*. 1930. V. 23. P. 485–489.
12. Н.В. Топчий, А.С. Топорков. Возможности применения тиотриазолина в качестве средства метаболической терапии // *Русский медицинский журнал*. 2015. С. 890–894.
13. S.Prakash, S.Agrawal. Significance of pharmacogenetics and pharmacogenomics research in current medical practice // *Current Drug Metabolism*. 2016. V 17. P. 862–876.
14. R.T. Di-Giulio, G.W. Winstonand. Pro-oxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms // *Aquat. Toxicology*. 1991. P. 137–167.
15. Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. 252 с.
16. M.R. Hayden. Islet Amyloid, Metabolic Syndrome, and the Natural Progressive History of Type 2 Diabetes Mellitus // *JOP. J Pancreas*. 2002. P. 126–138.
17. Ю.А. Владимиров. Свободные радикалы в биологических системах // *Соросовский образовательный журнал*. 2000. Т. 6. № 12. С. 13–19.
18. И.А. Фридович. Свободные радикалы в биологии. – М.: Наука, 1979.
19. Ю.А. Владимиров, О.А. Азизова. Свободные радикалы в живых системах // *Итоги науки и техники. Биофизика*. 1992. Т. 29. С. 3–250.
20. Р.А. Мухамадияров, Е.А. Сенокосова. Влияние ишемической гипоперфузии изолированного сердца пустыми липосомами и липосомами с антиоксидантами на ультраструктуру миокарда // *Современные проблемы науки и образования*. 2016. № 2. С. 123.
21. Е.В. Орлова. Изучение влияния кальциевого антагониста верапамила и иммуномодуляторов (т-активина и циклофосфамида) на кинетические свойства  $Ca^{2+}$ -зависимой NOS из тимоцитов и гепатоцитов крыс // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2005. № 4. С. 26–29.