



DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-3-0-7

УДК 616-092.9:615.21/26

Коррекция митохондриальной дисфункции коричными кислотами при экспериментальной гиперцитокинемии

Д.И. Поздняков 

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»,
пл. Павших борцов, д. 1, г. Волгоград, 400131, Российская Федерация
Автор для переписки: Д.И. Поздняков (pozdniackow.dmitry@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: Митохондриальная дисфункция является существенной составляющей патогенеза гиперцитокиневой нейротоксичности и представляет собой перспективную фармакотерапевтическую мишень. **Цель исследования:** Оценить влияние коричных кислот на изменение митохондриальной функции в ткани головного мозга у крыс в условиях экспериментальной гиперцитокинемии. **Материалы и методы:** Гиперцитокинемию моделировали у крыс путем внутрибрюшинного введения липополисахарида в дозе 10 мг/кг. Исследуемые соединения (коричную, феруловую, кумаровую, кофейную, синаповую кислоты) и препарат сравнения (этилметилгидроксипиридина сукцинат) вводили в дозе 100 мг/кг, перорально на протяжении 14 дней с момента введения липополисахарида. Далее у крыс оценивали изменение неврологического дефицита и в митохондриальной фракции головного мозга определяли активность сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы, концентрацию митохондриального пероксида водорода и супероксид-радикала. **Результаты:** Применение препарата сравнения, кофейной и кумаровой кислот и в меньшей степени коричной кислоты способствовало уменьшению неврологического дефицита у крыс (на 38,5%; 42,3% 40,4% и 21,2% соответственно, все показатели $p < 0,05$ относительно группы животных негативного контроля), при увеличении активности сукцинатдегидрогеназы (на 23,0% ($p < 0,05$); 30,0% ($p < 0,05$) и 20,0% ($p < 0,05$), коричная кислота значимого влияния на активность фермента не оказала) и цитохром-с-оксидазы (на 22,2%; 34,4%; 32,2%; и 22,2% соответственно, все показатели $p < 0,05$ относительно группы животных негативного контроля), а также снижении концентрации супероксид радикала (на 38,8%; 48,8%; 46,3%; и 33,4% соответственно, все показатели $p < 0,05$ относительно группы животных негативного контроля) и пероксида водорода (на 25,0% ($p < 0,05$); 54,2% ($p < 0,05$); 50,4% и 27,9% ($p < 0,05$) соответственно). При этом, антирадикальная активность и изменение активности сукцинатдегидрогеназы коррелировало с нормальным градиентом молекул. **Заключение:** Исследование показало возможность применения коричных кислот, содержащих свободные гидроксильные группы в ароматическом кольце, для коррекции постгиперцитокиневой нейротоксичности.

Ключевые слова: коричные кислоты; нейротоксичность; митохондриальная дисфункция; гиперцитокинемия

Для цитирования: Поздняков ДИ. Коррекция митохондриальной дисфункции коричными кислотами при экспериментальной гиперцитокинемии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022;8(3):351-364. DOI:10.18413/2658-6533-2022-8-3-0-7

Correction of mitochondrial dysfunction with cinnamic acids in experimental hypercytokinemia

Dmitry I. Pozdnyakov 

Volgograd State Medical University,
1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russia

Corresponding author: Dmitry I. Pozdnyakov (pozdniackow.dmitry@yandex.ru)

Abstract

Background: Mitochondrial dysfunction is an essential component of the hypercytokine neurotoxicity pathogenesis and is a promising pharmacotherapeutic target. **The aim of the study:** To evaluate the effect of cinnamic acids on changes in mitochondrial function in brain tissue of rats under experimental hypercytokinemia. **Materials and methods:** Hypercytokinemia was modeled in rats by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide at a dose of 10 mg/kg. The test compounds (cinnamic, ferulic, coumaric, caffeic, synapic acids) and the reference medicine (ethylmethylhydroxypyridine succinate) were administered at a dose of 100 mg/kg, orally for 14 days from the moment of lipopolysaccharide injection. Further, changes of neurological deficits in rats and the activity of succinate dehydrogenase and cytochrome-c-oxidase were assessed, the concentration of mitochondrial hydrogen peroxide and superoxide radical were determined in the mitochondrial fraction of the brain. **Results:** The use of the reference, caffeic and coumaric acids and, to a lesser extent, cinnamic acid contributed to a decrease in neurological deficit in rats (by 38.5%; 42.3%, 40.4% and 21.2%, respectively, all indicators $p < 0.05$ relative to the negative control group of animals), with an increase in succinate dehydrogenase activity (by 23.0% ($p < 0.05$); 30.0% ($p < 0.05$) and 20.0% ($p < 0.05$), cinnamic acid had no significant effect on enzyme activity) and cytochrome-c-oxidase (by 22.2%; 34.4%; 32.2%; and 22.2%, respectively, all indicators $p < 0.05$ relative to the group of negative control animals), as well as a decrease in the concentration of superoxide radical (by 38.8%; 48.8%; 46.3%; and 33.4%, respectively, all indicators $p < 0.05$ relative to the negative control group of animals) and hydrogen peroxide (by 25.0% ($p < 0.05$); 54.2% ($p < 0.05$); 50.4% and 27.9% ($p < 0.05$), respectively). At the same time, the antiradical activity and the change in the activity of succinate dehydrogenase correlated with the normal gradient of the molecules. **Conclusion:** The study showed the possibility of using cinnamic acids containing free hydroxyl groups in the aromatic ring to correct posthypercytokine neurotoxicity.

Keywords: cinnamic acids; neurotoxicity; mitochondrial dysfunction; hypercytokinemia

For citation: Pozdnyakov DI. Correction of mitochondrial dysfunction with cinnamic acids in experimental hypercytokinemia. Research Results in Biomedicine. 2022;8(3):351-364. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-3-0-7

Введение. Гиперцитокиновые расстройства, такие как «цитокиновый шторм» наносят огромный ущерб организму человека. В результате массивного выброса в системный кровоток провоспалительных цитокинов отмечается развитие полиорганной недостаточности, в ходе которой прежде всего повреждаются сердечно-сосудистая, дыхательная и выделительная системы [1]. Также было установлено, что гиперпродукция цитокинов (фактор некроза опухоли - α (ФНО- α), интерлейкин-6 (ИЛ-6) и интерлейкин 1- β (ИЛ-1 β)) и вызываемые ими эффекты негативно отражаются на структурно-функциональной целостности нейронов головного мозга, запуская процессы нейровоспаления [2]. Активация процессов воспаления мозговой ткани приводит к повреждению эндотелия мозговых сосудов, увеличению проницаемости гематоэнцефалического барьера, эксайтотоксичности, дегенерации аксонов, нейромедиаторному дисбалансу и ухудшению клеточного метаболизма [3].

Также, воспалительные процессы в ткани головного мозга могут активироваться не только провоспалительными цитокинами или хемокинами. Не последнюю роль в нейровоспалении играют активные формы кислорода (АФК), провоспалительные ферменты, такие как индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS) и вторичные мессенджеры. На сегодняшний день установлено, что повышению интенсивности нейровоспалительных реакций способствуют «неклассические» соединения, например, вещества, образующиеся в ходе деструкции митохондрий клетки [4]. Митохондрии содержат целый ряд потенциально сильных провоспалительных агентов, таких как митохондриальная ДНК (мтДНК), цитохром С, кардиолипиды, формилпептиды, которые в определенных условиях могут приобретать иммуногенные свойства. Одной из таковых причин является окислительная модификация митохондрий под действием прооксидантов с последующей их гибелью [5]. В результате лизиса митохондрий окисленная мтДНК иници-

рует вторичный выброс цитокинов/хемокинов глияльными клетками, усиливая нейровоспалительные процессы. Также клетки глии могут активироваться избытком молекул АТФ, увеличивая экспрессию гена ИЛ-6 [6].

В этой связи можно предположить, что сохранение целостности митохондрий, а также стабилизации их функции может уменьшить негативное влияние цитокинов на клетки головного мозга [7].

В коррекции митохондриальных нарушений все большую актуальность приобретают соединения природного происхождения, которые выгодно отличаются от веществ, полученных синтетическим путем, оптимальным соотношением эффективности/безопасность. Установлено положительное влияние на изменение функциональной активности митохондрий ресвератрола, диосмина, куркумина, ди/ и тритепеноидов, гераниола и ряда других соединений [8]. В литературе приводятся сведения о митохондриотропной активности производных коричной кислоты, в частности, модифицированная трифенилфосфониевым катионом кофейная кислота проявляла свойства эффективного антиоксиданта, подавляя образование митохондриального пероксида водорода [9]. Также ранее проведенные исследования показали, что применение производных коричной кислоты при ишемии мозга способствовало восстановлению активности ферментов митохондриального происхождения – аконитазы, цитратсинтазы и α -кетоглутаратдегидрогеназы [10]. Таким образом, можно предположить, что на фоне введения коричных кислот будет отмечаться снижение степени повреждения головного мозга, опосредованного гиперпродукцией цитокинов.

Цель исследования. Оценить влияние производных коричной кислоты на изменение митохондриальной функции в головном мозге у крыс в условиях экспериментальной гиперцитокинемии.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 80 крысах-самцах линии Wistar (половозрелые, масса тела – 200-220 грамм). Животные

были получены из лаборатории живых систем Пятигорского медико-фармацевтического института и на время исследования содержались в контролируемых условиях экспериментального вивария при температуре воздуха 18-22 °С, относительной влажности 50-60% и 12-ти часовой смене суточного цикла. Дизайн исследования, биометодологические техники и содержание животных соответствовали принципам ARRIVE 2.0. [11]. Гиперцитокинемию у крыс воспроизводили путем интраперитонеального введения липолисахарида *E.coli* в дозе 10 мг/кг [12]. В ходе проведения исследования экспериментальные группы формировались методом рандомизации по массе тела. Были выделены следующие группы животных: ИН – интактные животные, НК – негативный контроль, группа животных, которой вводили референтный препарат этилметилгидроксипиридина сукцинат (Мексидол, ФАРМАСОФТ, Россия) в дозе 100 мг/кг (*per os*) и группы крыс, получавших изучаемые соединения – коричную кислоту, кофейную кислоту, кумаровую кислоту, синаповую и феруловую кислоты в дозе 100 мг/кг (*per os*) каждое соединение [10]. Выбор препарата сравнения основан на исследовании, проведенном Кировой Ю.И., с соавт. 2020, в котором показано, что применение этилметилгидроксипиридина сукцината увеличивает митохондриогенез в головном мозге, посредством взаимодействия с регуляторным сукцинатным рецептором SUCNR1. [13].

Исследуемые объекты были предоставлены *Hunan Warrant Pharmaceuticals* (КНР). Препарат сравнения и анализируемые вещества вводили на протяжении 14 дней с момента введения бактериального липополисахарида. Продолжительность введения исследуемых соединений и референта обусловлена особенностями экспериментальной модели гиперцитокинемии. Далее у животных оценивали изменение неврологического дефицита по шкале McGraw [14], производили забор биоматериала и осуществляли оценку изменения митохондриальной функции в ткани головного мозга.

Митохондриальную фракцию головного мозга получали путем градиентного центрифугирования гомогената головного мозга, для чего головной мозг гомогенизировали в среде 1 ммоль ЭГТА + 215 ммоль маннита + 75 ммоль сахарозы + 0,1% раствор БСА + 20 ммоль HEPES, при pH 7,2. Гомогенат центрифугировали в течение 2 минут при ускорении 1100g. Супернатант переносили в пробирки Эппендорф и наслаивали 10%-раствор перколла (*Sigma-Aldrich*). Полученную смесь повторно центрифугировали в течение 10 минут при ускорении 18000g. Надосадочную жидкость отбрасывали, осадок ресуспендировали в 1 мл изолирующей среды и центрифугировали в течение 5 минут при 10 000 g. [15].

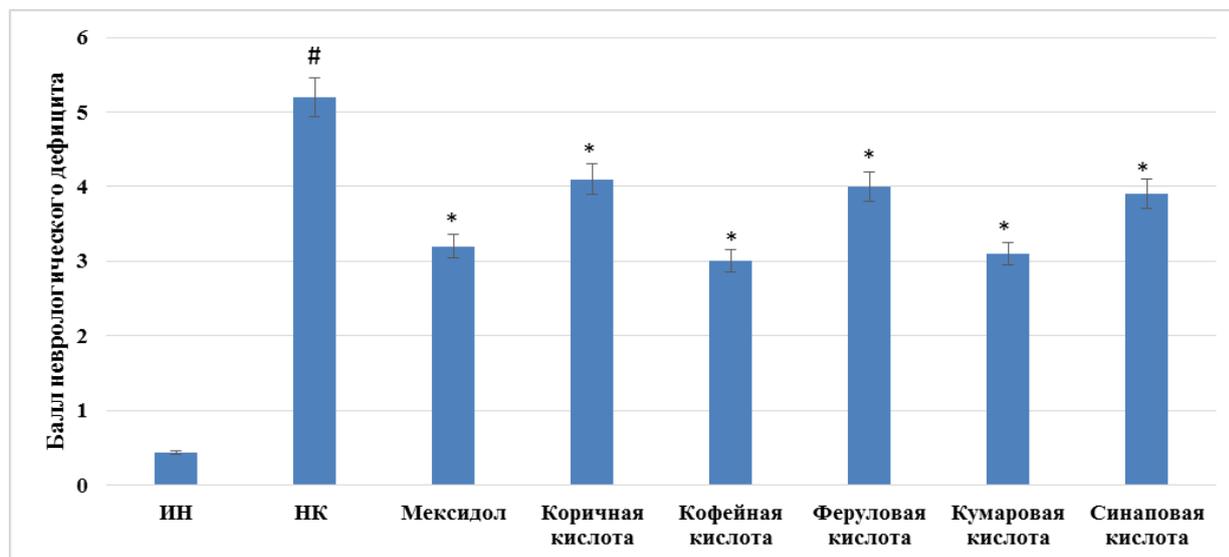
Полученную надосадочную фракцию удаляли для определения активности цитохром-с-оксидазы и сукцинатдегидрогеназы, а также концентрации митохондриального пероксида водорода и супероксидрадикала. Активность цитохром-с-оксидазы определяли в митохондриальной фракции по изменению оптической плотности среды реакции окисления цитохрома С (II) в присутствии KCN при 500 нм. [16]. Активность сукцинатдегидрогеназы оценивали спектрофотометрически в реакции сукцинат-зависимого восстановления ди-хлорфенолиндофенола при добавлении в анализируемую среду ротенона при 600 нм. [17]. Оптическую плотность смесей регистрировали на спектрофотометре ПРОМ-ЭКОЛАБ ПЭ-5300В в кюветках с длиной оптического пути 10 мм. Активность ферментов выражали в Ед/мг белка. Содержание белка в анализируемых образцах оценивали по методу Бредфорда. Концентрацию митохондриального пероксида водорода измеряли по изменению флуоресцентного сигнала, окрашенного резорурфина при длине волны возбуждения/эмиссии 570/585 нм. Содержание супероксид-радикала в анализируемых образцах определяли по изменению флуоресцентного сигнала дигидроэтидий бромида при длине волны возбуждения/эмиссии 480/610 нм. [18]. С целью вы-

явления некоторых закономерностей соотношения структура-активность в ряду исследуемых веществ был произведен расчет квантово-химических параметров, характеризующих целевые свойства молекул: теплота образования (ккал/моль), общая энергия (ЕВ), электронная энергия (ЭВ), энергия межъядерного взаимодействия (ЕВ), нормальный градиент, дипольный момент, потенциал ионизации (ЕВ), энергия наивысшей занятой молекулярной орбитали (ЕВ) и энергия низшей занятой молекулярной орбитали (ЕВ). Расчет произведен с применением программного обеспечения МОРАС 2016 с протоколом РМ7.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с применением программного пакета STATISTICA 6.0 (StatSoft). Данные выражали в виде $M \pm SEM$ (среднее \pm стандартная ошибка среднего). Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка, однородность дисперсия –

с применением критерия Левена. Статистическую значимость отличий между группами проводили методом однофакторного дисперсионного анализа с пост-обработкой Ньюмена-Кейсла при критическом уровне значимости $p < 0,05$. Корреляционный анализ выполнен согласно критерию Пирсона.

Результаты исследования. В ходе оценки изменения неврологического дефицита (рис. 1) было установлено, что у НК группы крыс по отношению к ИН крысам наблюдалось повышение суммарного балла неврологического дефицита в 12,1 раза ($p < 0,05$). На фоне введения Мексидола отмечено снижение степени выраженности неврологической симптоматики в сравнении с НК группой на 38,5% ($p < 0,05$), в то время как при применении изучаемых соединений – коричной, кофейной, феруловой, кумаровой и синаповой кислот данный показатель уменьшился на 21,2% ($p < 0,05$), 42,3% ($p < 0,05$), 23,1% ($p < 0,05$), 40,4% ($p < 0,05$) и 25,0% ($p < 0,05$) соответственно.



Примечание: # – статистически достоверно относительно ИН группы; * – статистически достоверно относительно НК группы. Во всех случаях критерий Ньюмена-Кейсла $p < 0,05$.

Рис. 1. Влияние изучаемых соединений и препарата сравнения на изменение неврологического дефицита у животных в условиях гиперцитокинемии

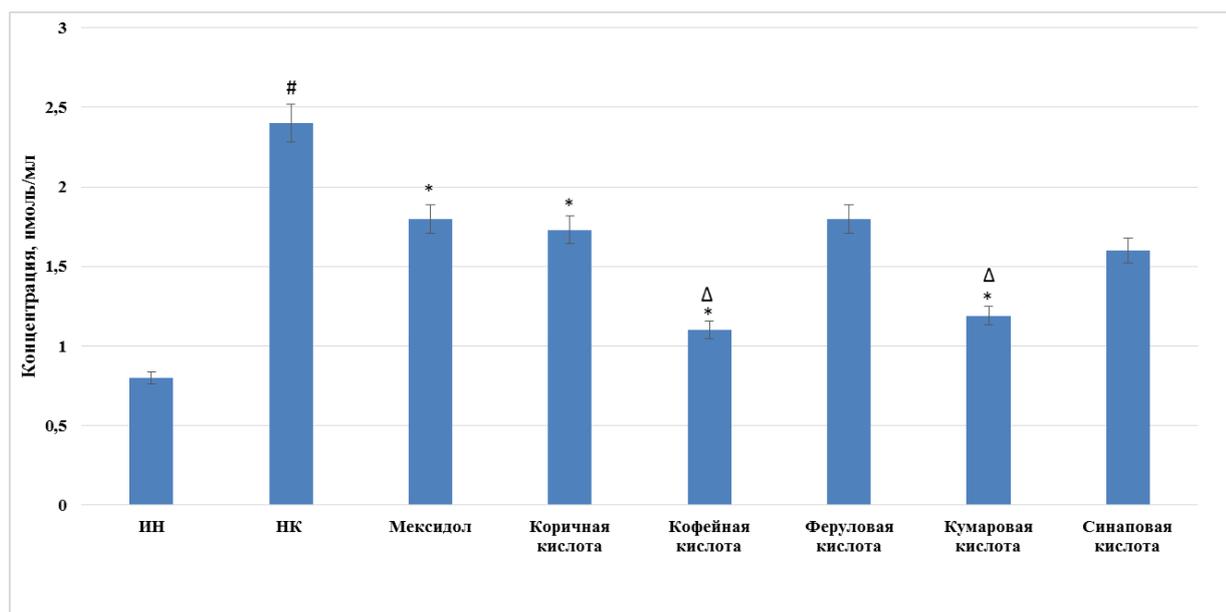
Note: # – statistically significant relative to the group ID; * – statistically significant relative to the NC group. In all cases, the Newman-Keuls test $p < 0.05$.

Fig. 1. Effect of the studied compounds and the reference medicine on the change of neurological deficit in animals under conditions of hypercytokinemia

Дальнейший ход исследования показал, что концентрация митохондриального пероксида водорода (рис. 2) и супероксид-радикала (рис. 3) в мозговой ткани у крыс НК группы была выше такового у ИН группы животных в 3,0 ($p<0,05$) и 4,0 ($p<0,05$) раза соответственно. Применение Мексидола способствовало уменьшению содержания в митохондриальной фракции, как пероксида водорода, так и супероксид-радикала по отношению к НК группе животных на 25,0% ($p<0,05$) и 38,8% ($p<0,05$) соответственно.

В ряду изучаемых веществ наиболее выраженные антирадикальные свойства были установлены для кофейной и кумаровой кислот, введение которых способствовало уменьшению концентрации пероксида водорода на 54,2% ($p<0,05$) и 50,4%

($p<0,05$) соответственно, а супероксид-радикала на 48,8 % ($p<0,05$) и 46,3% ($p<0,05$) соответственно. Несколько меньшую активность проявляла коричная кислота, на фоне применения которой содержание митохондриального пероксида водорода и супероксид-радикала уменьшилось на 27,9% ($p<0,05$) и 33,4% ($p<0,05$) в сравнении с показателями НК группы крыс. При этом, концентрация пероксида водорода при применении кофейной и кумаровой кислот была ниже, чем у группы крыс, получавшей Мексидол на 38,8 ($p<0,05$) и 33,3% ($p<0,05$) соответственно. Стоит отметить, что применение феруловой и синаповой кислот значимого влияния на изменение содержания пероксида водорода и супероксид-радикала в митохондриальной фракции головного мозга не оказало.

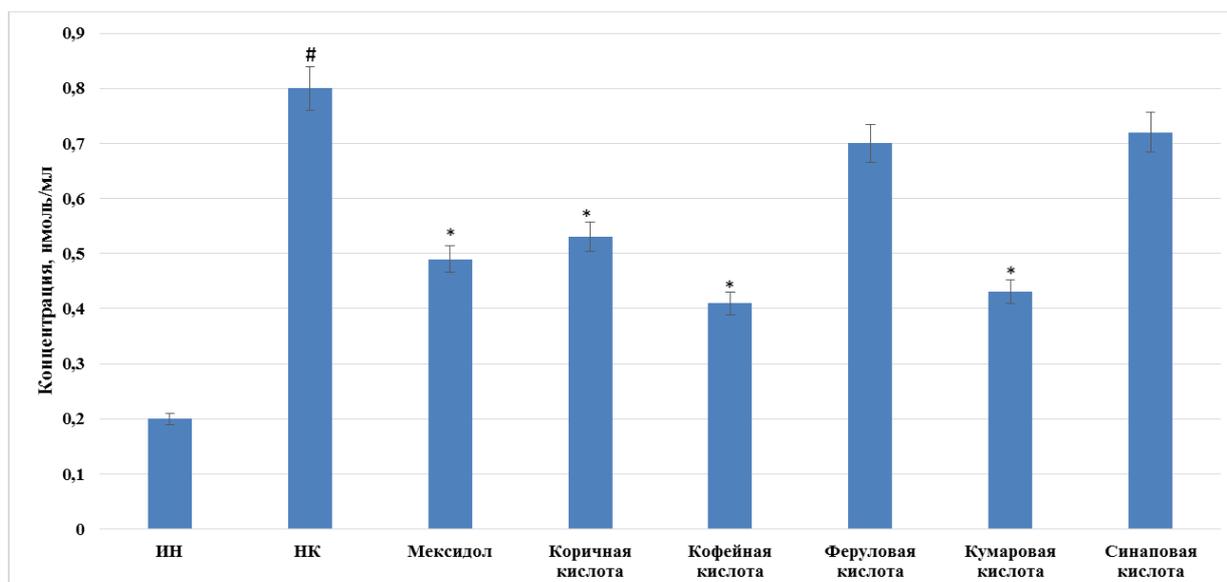


Примечание: # – статистически достоверно относительно ИН группы; * – статистически достоверно относительно НК группы; Δ – статистически достоверно, относительно животных, которым вводили Мексидол. Во всех случаях критерий Ньюмена-Кейсла $p<0,05$.

Рис. 2. Влияние изучаемых соединений и препарата сравнения на изменение концентрации пероксида водорода в митохондриальной фракции головного мозга у животных в условиях гиперцитокинемии

Note: # – statistically significant relative to the group ID; * – statistically significant relative to the NC group; Δ – statistically significant, relative to the animals that were injected with Mexidol. In all cases, the Newman-Keuls test $p<0.05$.

Fig. 2. Effect of the studied compounds and the reference medicine on the change in the concentration of hydrogen peroxide in the mitochondrial fraction of the brain in animals under conditions of hypercytokinemia



Примечание: # – статистически достоверно относительно ИН группы; * – статистически достоверно относительно НК группы. Во всех случаях критерий Ньюмена-Кейсла $p < 0,05$.

Рис. 3. Влияние изучаемых соединений и препарата сравнения на изменение концентрации супероксид-радикала в митохондриальной фракции головного мозга у животных в условиях гиперцитокинемии

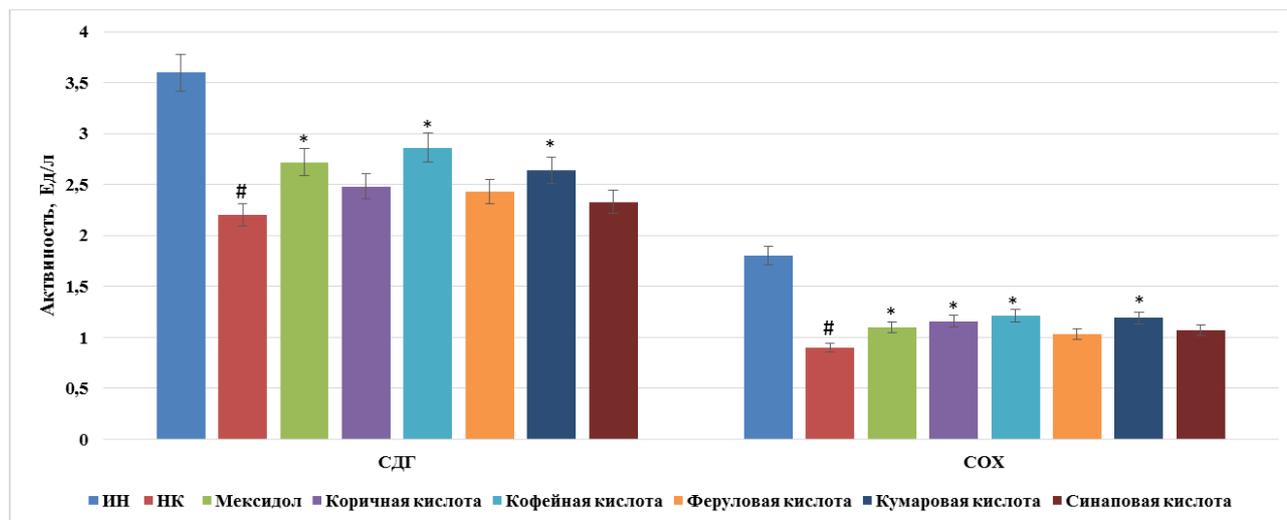
Note: # – statistically significant relative to the group ID; * – statistically significant relative to the NK group. In all cases, the Newman-Keuls test $p < 0.05$.

Fig. 3. Effect of the studied compounds and the reference medicine on the change in the concentration of the superoxide radical in the mitochondrial fraction of the brain in animals under conditions of hypercytokinemia

Анализ изменения активности сукцинатдегидрогеназы (рис.4) позволил установить, что у крыс НК отмечено снижение активности данного энзима относительно ИН группы на 38,9% ($p < 0,05$), при уменьшении активности цитохром-с-оксидазы (рис. 4) в 2,0 раза ($p < 0,05$). Применение Мексидола способствовало повышению активности сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы в сравнении с НК группой животных на 23,6% ($p < 0,05$) и 22,2% ($p < 0,05$) соответственно. Также каталитические свойства сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы увеличились при введении животным кофейной кислоты (на 30,0%

($p < 0,05$) и 34,4% ($p < 0,05$) соответственно) и кумаровой кислоты (на 20,0 % ($p < 0,05$) и 32,2% ($p < 0,05$) соответственно). У крыс, получавших коричную кислоту отмечено повышение активности цитохром-с-оксидазы в сравнении с показателем НК группы на 22,2% ($p < 0,05$).

Проведенный в дальнейшем корреляционный анализ взаимосвязи активности и изменения квантово-химических параметров молекул (табл. 1) позволил установить, что в ингибирующая активность в отношении супероксид-радикала в наибольшей степени зависит от нормального градиента ($r = -0,96587$).



Примечание: СДГ – сукцинатдегидрогеназа; СОХ – цитохром-с-оксидаза; # – статистически достоверно относительно ИН группы; * – статистически достоверно относительно НК группы. Во всех случаях критерий Ньюмена-Кейсла $p < 0,05$.

Рис. 4. Влияние изучаемых соединений и препарата сравнения на изменение активности сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы в митохондриальной фракции головного мозга у животных в условиях гиперцитокинемии

Note: СДГ – succinate dehydrogenase; СОХ – cytochrome c oxidase; # – statistically significant relative to the group IN; * – statistically significant relative to the NK group. In all cases, the Newman-Keuls test $p < 0.05$.

Fig. 4. Effect of the studied compounds and the reference medicine on the change in the activity of succinate dehydrogenase and cytochrome-c oxidase in the mitochondrial fraction of the brain in animals under conditions of hypercytokinemia

Таблица 1

Квантово-химические параметры, используемые при проведении корреляционного анализа

Table 1

Quantum-chemical parameters used in the correlation analysis

Параметр	Коричная кислота	Кофейная кислота	Феруловая кислота	Кумаровая кислота	Синаповая кислота
Теплота образования, ккал/моль	-46,881	-138,52093	-92,08089	-165,61028	-133,52933
Общая энергия, ЕВ	1803,48678	-2394,44371	-2098,94702	-2988,56099	-2543,95571
Электронная энергия, ЕВ	8793,15092	-12030,2032	-10324,3609	17459,3008	-13664,3484
Энергия межядерного взаимодействия, ЕВ	6989,66414	9635,75953	8225,4139	14470,73981	11120,39266
Нормальный градиент	0,68336	0,9593	0,75388	0,89961	0,91461
Дипольный момент	5,04333	3,71918	6,25115	6,90021	4,48361
Потенциал ионизации, ЕВ	10,05844	9,031399	9,517903	8,945714	8,851467
Энергия наивысшей занятой молекулярной орбитали, ЕВ	-10,058	-9,031	-9,518	-8,946	-8,851
Энергия низшей занятой молекулярной орбитали, ЕВ	-0,847	-0,465	-0,852	-0,485	-0,35

Сильная корреляция была установлена между способностью изучаемых веществ ингибировать образование пероксида водорода и нормальным градиентом

($r = -0,802155$). Также с изменением нормального градиента сильно коррелировало изменение активности сукцинатдегидрогеназы ($r = 0,864808$). Стоит отметить, что выражен-

ных взаимосвязей между квантово-химическими параметрами исследуемых веществ и

изменением активности цитохром-с-оксидазы не прослеживалось (табл. 2).

Таблица 2

Значение полученных коэффициентов корреляции

Table 2

The value of the obtained correlation coefficients

Параметр	Супероксид, нмоль/мл	Пероксид водорода, нмоль/мл	СДГ, Ед/л	СОХ, Ед/л
Теплота образования, ккал/моль	0,400171	0,771782	-0,659831	-0,278867
Общая энергия, ЕВ	0,337788	0,690160	-0,492990	-0,275793
Электронная энергия, ЕВ	-0,513381	-0,455051	0,031248	0,426591
Энергия межъядерного взаимодействия, ЕВ	-0,310128	-0,634297	0,394323	0,284858
Нормальный градиент	-0,96587	-0,802155	0,864808	0,340750
Дипольный момент	-0,082382	0,169051	-0,568228	-0,207693
Потенциал ионизации, ЕВ	0,156184	0,636947	-0,650265	-0,092914
Энергия наивысшей занятой молекулярной орбитали, ЕВ	-0,155949	-0,636922	0,650514	0,092973
Энергия низшей занятой молекулярной орбитали, ЕВ	-0,095511	-0,660227	0,746693	0,280159

Обсуждение результатов. Гиперцитокинемия как самостоятельный патологический синдром, так и как часть патогенеза других заболеваний сопровождается значительной смертностью населения, в ряде случаев составляющей более 40%. Установлено, что провоспалительные цитокины оказывают неспецифическое повреждающее действие практически на все органы и ткани, что приводит к полиорганной недостаточности. Высокая степень цитокин-опосредованных нарушений отмечается прежде всего в органах с интенсивным метаболизмом, например, в головном мозге, что выражается в развитии нейротоксического эффекта [19].

Повреждение головного мозга, вызываемое цитокинами, в основном происходит за счет индукции нейровоспаления, в ходе которого отмечается развитие каскада взаимосвязанных реакций, таких как, повреждение гемато-энцефалического барьера, развитие отеков цитотоксического и вазогенного типа, лактат-ацидоз, окислительный стресс, энергодефицит [20]. В связи с высокой патогенетической ролью нейровоспаления данный патогенетический механизм все чаще становится мишенью для целенаправленного фармакологического вмешательства, в том числе и в

условиях системой гиперцитокинемии. Так, Yang, et al., 2020 было показано, что применение дигидротестостерона у животных с экспериментальной гиперцитокинемией способствовало уменьшению степени повреждающего действия на мозговую ткань провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α . Также в данном исследовании продемонстрирована связь воспаления и апоптотического каскада, что является характерной особенностью липополисахарида как индуктора гиперцитокинемии [21]. Известно, что введение бактериального липополисахарида приводит к выраженной нейротоксичности за счет повышенного образования провоспалительных цитокинов и индукции нисходящих провоспалительных сигнальных путей, контролируемых NfkB, что приводит к иницированию программы апоптоза, развитию окислительного стресса в нейронах и клетках глии, приводя к их гибели с развитием клинических проявлений поражения ЦНС [22]. Одним из основных медиаторов липополисахарид-индуцированной нейротоксичности являются митохондриальные активные формы кислорода (АФК), представленные, как правило, супероксид-радикалом и пероксидом водорода [23]. АФК считаются токсичными интермедиатами аэробного

метаболизма и основной причиной клеточного повреждения. Высокая интенсивность окислительных процессов, происходящих в митохондриях, делают данные органеллы основными продуцентами АФК. В митохондриях идентифицировано 11 сайтов генерации АФК, образующихся при утечке протонов в митохондриальной дыхательной цепи [24]. Важное значение в образовании митохондриальных АФК играет изменение активности комплексов митохондриальной дыхательной цепи, в том числе макромолекулярными комплексами сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы. Сукцинатдегидрогеназа или митохондриальный комплекс II генерирует значительное количество АФК, связанных с дефицитом флавопротеина. Цитохром-с-оксидаза (комплекс IV) менее склонна к генерации АФК, но образующиеся радикалы могут инициировать альтернативные каскады клеточного повреждения [25]. В этой связи наблюдаемое на фоне введения изучаемых соединений – кофейной и кумаровой кислот повышение активности сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы может являться причиной снижения интенсивности реакций образования АФК, что было подтверждено в ходе оценки изменения концентрации митохондриального пероксида водорода и супероксид-радикала. Кроме того, данные ферментативные комплексы (сукцинатдегидрогеназа и цитохром-с-оксидаза) служат маркерами митохондриального биогенеза и повышение их активности свидетельствует о повышении синтеза митохондрий *de novo* [26]. При этом, увеличение биогенеза митохондрий в условиях липополисахарид-индуцированной нейротоксичности может иметь решающее значение для выживаемости нейронов, поскольку вновь образующиеся митохондрии содержат на порядок меньше дефектной ДНК и менее склонны к генерации АФК и инициированию апоптоза [27]. Также немаловажно, что при введении исследуемых соединений отмечено снижение выраженности неврологического дефицита. Стоит отметить, что наибольший уровень активно-

сти продемонстрировали соединения, содержащие в своей структуре свободные гидроксильные группы в ароматическом кольце. В этой связи был проведен корреляционный анализ, на основе методов вычислительной химии, целью которого являлось установить наличие определенных закономерностей изменения фармакологического эффекта от квантово-химических параметров молекул, наиболее полно характеризующих их состояние. Квантово-химические дескрипторы играют фундаментальную роль в химии и биомедицинских исследованиях, поскольку они определяют корреляции между химическими структурами и свойствами молекул (количественное соотношение структура-активность). Данные параметры могут предоставить исчерпывающую информацию о пространственно-геометрических, электростатических и реакционных свойствах молекул. Таким образом, многие дескрипторы отражают свойства молекул и могут дать представление о химической природе соединений, что несомненно важно в ходе целенаправленного синтеза новых родственных веществ.

Проведенный корреляционный анализ показал, что радикал-ингибирующие свойства в большей степени коррелируют с изменением нормального градиента ($r=-0,96587$ для супероксид-радикала и $r=-0,802155$ для пероксида водорода), что и отражает вклад гидроксильных групп в изменение плотности электронного заряда в ароматическом кольце [28]. Стоит отметить, что активность сукцинатдегидрогеназы также коррелировало с изменением нормального градиента ($r=0,864808$), в то время как в отношении цитохром-с-оксидазы существенных корреляционных взаимосвязей не установлено.

Заключение. Проведенное исследование показало, что в условиях липополисахарид-индуцированной нейротоксичности применение кумаровой и кофейной кислот способствовало восстановлению митохондриальной функции, что отразилось в повышении активности сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы, снижению генерации митохондриальных активных

форм кислорода, что в итоге привело к уменьшению степени выраженности неврологического дефицита.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(23):2255-2273. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>
2. Kempuraj D, Selvakumar GP, Ahmed ME, et al. COVID-19, Mast Cells, Cytokine Storm, Psychological Stress, and Neuroinflammation. *Neuroscientist*. 2020;26(5-6):402-414. DOI: <https://doi.org/10.1177/1073858420941476>
3. Yang QQ, Zhou JW. Neuroinflammation in the central nervous system: Symphony of glial cells. *GLIA*. 2019;67(6):1017-1035. DOI: <https://doi.org/10.1002/glia.23571>
4. Garabadu D, Agrawal N, Sharma A, et al. Mitochondrial metabolism: a common link between neuroinflammation and neurodegeneration. *Behavioural Pharmacology*. 2019;30(8):642-652. DOI: <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000505>
5. Swerdlow RH. Mitochondria and Mitochondrial Cascades in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;62(3):1403-1416. DOI: <https://doi.org/10.3233/JAD-170585>
6. Wilkins HM, Swerdlow RH. Relationships Between Mitochondria and Neuroinflammation: Implications for Alzheimer's Disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2016;16(8):849-57. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026615666150827095102>
7. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *Journal of Neurochemistry*. 2016;139(S2):136-153. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.13607>
8. Stacchiotti A, Corsetti G. Natural Compounds and Autophagy: Allies Against Neurodegeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020;8:555409. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.555409>
9. Teixeira J, Soares P, Benfeito S, et al. Rational discovery and development of a mitochondria-targeted antioxidant based on cinnamic acid scaffold. *Free Radical Research*. 2012;46(5):600-11. DOI: <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.662593>
10. Воронков АВ, Поздняков ДИ, Аджихметова СЛ, др. Влияние некоторых производных коричной кислоты на изменение активности ферментов цикла трикарбоновых кислот у крыс в условиях ишемии головного мозга. *Медицинский академический журнал*. 2020;20(2):27-32. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ33994>
11. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology*. 2020;18(7):e3000410. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
12. Zhang H, Sha J, Feng X, et al. Dexmedetomidine ameliorates LPS induced acute lung injury via GSK-3 β /STAT3-NF- κ B signaling pathway in rats. *International Immunopharmacology*. 2019;74:105717. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.105717>
13. Кирова ЮИ, Шакова ФМ, Германова ЭЛ, и др. Влияние Мексидола на церебральный митохондриогенез в молодом возрасте и при старении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(1):62-69. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro202012001162>
14. Vasilevskaya E, Makarenko A, Tolmacheva G, et al. Local Experimental Intracerebral Hemorrhage in Rats. *Biomedicines*. 2021;9(6):585. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9060585>
15. Воронков АВ, Поздняков ДИ, Аджихметова СЛ, и др. Митохондриальная дисфункция при нейродегенеративных и ишемических поражениях головного мозга. Экспериментальные и фармакологические аспекты. К: Бук; 2020.
16. Hill MD, Goyal M, Menon BK, et al. Efficacy and safety of nerinetide for the treatment of acute ischaemic stroke (ESCAPE-NA1): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2020;395(10227):878-887. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30258-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30258-0)

17. Fargualy AM, Habib NS, Ismail KA, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of some pyrimidine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013;66:276-95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.05.028>

18. Zhu Z, Guo R, Li Y, et al. Comparison of three analytical methods for superoxide produced by activated immune cells. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2020;101:106637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2019.106637>

19. Norelli M, Camisa B, Barbiera G, et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nature Medicine*. 2018;24(6):739-748. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0036-4>

20. Mukhara D, Oh U, Neigh GN. Neuroinflammation. *Handbook of Clinical Neurology*. 2020;175:235-259. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64123-6.00017-5>

21. Yang L, Zhou R, Tong Y, et al. Neuroprotection by dihydrotestosterone in LPS-induced neuroinflammation. *Neurobiology of Disease*. 2020;140:104814. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.104814>

22. Alhadidi Q, Shah ZA. Cofilin Mediates LPS-Induced Microglial Cell Activation and Associated Neurotoxicity Through Activation of NF- κ B and JAK-STAT Pathway. *Molecular Neurobiology*. 2018;55(2):1676-1691. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0432-7>

23. Park J, Min JS, Kim B, et al. Mitochondrial ROS govern the LPS-induced pro-inflammatory response in microglia cells by regulating MAPK and NF- κ B pathways. *Neuroscience Letters*. 2015;584:191-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.016>

24. Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2018;1859(9):940-950. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.05.019>

25. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2019;44(1):3-15. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4188>

26. Jornayvaz FR, Shulman GI. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays in Biochemistry*. 2010;47:69-84. DOI: <https://doi.org/10.1042/bse0470069>

27. Stetler RA, Leak RK, Yin W, et al. Mitochondrial biogenesis contributes to ischemic neuroprotection afforded by LPS pre-conditioning. *Journal of Neurochemistry*. 2012;123(S2):125-37. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07951.x>

28. Оганесян ЭТ, Шатохин СС. Использование квантово-химических параметров для прогнозирования антирадикальной ($\text{HO}\cdot$) активности родственных структур, содержащих циннамоильный фрагмент. III. халконы, флаваноны и флавоны с флороглюциновым типом кольца "А". *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):446-455. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-446-455>

References

1. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(23):2255-2273. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>

2. Kempuraj D, Selvakumar GP, Ahmed ME, et al. COVID-19, Mast Cells, Cytokine Storm, Psychological Stress, and Neuroinflammation. *Neuroscientist*. 2020;26(5-6):402-414. DOI: <https://doi.org/10.1177/1073858420941476>

3. Yang QQ, Zhou JW. Neuroinflammation in the central nervous system: Symphony of glial cells. *GLIA*. 2019;67(6):1017-1035. DOI: <https://doi.org/10.1002/glia.23571>

4. Garabadu D, Agrawal N, Sharma A, et al. Mitochondrial metabolism: a common link between neuroinflammation and neurodegeneration. *Behavioural Pharmacology*. 2019;30(8):642-652. DOI: <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000505>

5. Swerdlow RH. Mitochondria and Mitochondrial Cascades in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;62(3):1403-1416. DOI: <https://doi.org/10.3233/JAD-170585>

6. Wilkins HM, Swerdlow RH. Relationships Between Mitochondria and Neuroinflammation: Implications for Alzheimer's Disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2016;16(8):849-57. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026615666150827095102>

7. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *Journal of Neurochemistry*. 2016;139(S2):136-153. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.13607>

8. Stacchiotti A, Corsetti G. Natural Compounds and Autophagy: Allies Against Neurodegeneration. *Frontiers in Cell and Developmental*

- Biology. 2020;8:555409. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.555409>
9. Teixeira J, Soares P, Benfeito S, et al. Rational discovery and development of a mitochondria-targeted antioxidant based on cinnamic acid scaffold. *Free Radical Research*. 2012;46(5):600-11. DOI: <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.662593>
10. Voronkov AV, Pozdnyakov DI, Adjiakhmetova SL, et al. The effect of some cinnamic acid derivatives on the change in the activity of enzymes of the tricarboxylic acid cycle in rats under conditions of cerebral ischemia. *Medical Academic Journal*. 2020;20(2):27-32. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ33994>
11. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology*. 2020;18(7):e3000410. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
12. Zhang H, Sha J, Feng X, et al. Dexmedetomidine ameliorates LPS induced acute lung injury via GSK-3 β /STAT3-NF- κ B signaling pathway in rats. *International Immunopharmacology*. 2019;74:105717. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.105717>
13. Kirova YU, Shakova FM, Germanova EL, et al. The effect of Mexidol on cerebral mitochondriogenesis at a young age and during aging. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020;120(1):62-69. 2020;120(1):62-69. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro202012001162>
14. Vasilevskaya E, Makarenko A, Tolmacheva G, et al. Local Experimental Intracerebral Hemorrhage in Rats. *Biomedicines*. 2021;9(6):585. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9060585>
15. Voronkov AV, Pozdnyakov DI, Adjiakhmetova SL, et al. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative and ischemic brain lesions. *Experimental and pharmacological aspects*. K: Buk; 2020. Russian.
16. Hill MD, Goyal M, Menon BK, et al. Efficacy and safety of nerinetide for the treatment of acute ischaemic stroke (ESCAPE-NA1): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2020;395(10227):878-887. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30258-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30258-0)
17. Fargaly AM, Habib NS, Ismail KA, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of some pyrimidine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013;66:276-95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.05.028>
18. Zhu Z, Guo R, Li Y, et al. Comparison of three analytical methods for superoxide produced by activated immune cells. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2020;101:106637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2019.106637>
19. Norelli M, Camisa B, Barbiera G, et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nature Medicine*. 2018;24(6):739-748. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0036-4>
20. Mukhara D, Oh U, Neigh GN. Neuroinflammation. *Handbook of Clinical Neurology*. 2020;175:235-259. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64123-6.00017-5>
21. Yang L, Zhou R, Tong Y, et al. Neuroprotection by dihydrotestosterone in LPS-induced neuroinflammation. *Neurobiology of Disease*. 2020;140:104814. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.104814>
22. Alhadidi Q, Shah ZA. Cofilin Mediates LPS-Induced Microglial Cell Activation and Associated Neurotoxicity Through Activation of NF- κ B and JAK-STAT Pathway. *Molecular Neurobiology*. 2018;55(2):1676-1691. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0432-7>
23. Park J, Min JS, Kim B, et al. Mitochondrial ROS govern the LPS-induced pro-inflammatory response in microglia cells by regulating MAPK and NF- κ B pathways. *Neuroscience Letters*. 2015;584:191-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.016>
24. Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2018;1859(9):940-950. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.05.019>
25. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2019;44(1):3-15. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4188>
26. Jornayvaz FR, Shulman GI. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays in Biochemistry*. 2010;47:69-84. DOI: <https://doi.org/10.1042/bse0470069>
27. Stetler RA, Leak RK, Yin W, et al. Mitochondrial biogenesis contributes to ischemic neuroprotection afforded by LPS pre-conditioning. *Journal of Neurochemistry*. 2012;123(S2):125-37. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07951.x>

28. Oganesyanyan ET, Shatokhin S. The use of quantum-chemical parameters for predicting the antiradical (but·) activity of related structures containing a cinnamoyl fragment. III. chalcones, flavonones and flavones with the phloroglucin type of the "A" ring. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):446-455.

DOI:
<https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-446-455>

Статья поступила в редакцию 30 августа 2021 г.

Поступила после доработки 22 января 2022 г.

Принята к печати 16 апреля 2022 г.

Received 30 August 2021

Revised 22 January 2022

Accepted 16 April 2022

Информация об авторе

Дмитрий Игоревич Поздняков, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», г. Пятигорск, Российская Федерация, E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>.

Information about the author

Dmitry I. Pozdnyakov, Cand. Sci. (Pharmacy), Associate Professor at the Department of Pharmacology with a Course in Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – Branch of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia, E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>.