

и др., 2024). Кроме того, нами обнаружено, что трехсуточное введение КП мышам вызывает увеличение содержания белка-маркера аутофагии LC3B в клетках печени мышей, сопоставимое с эффектом двухсуточного голодания.

Известно, что процесс аутофагии регулирует не только выживаемость клеток и целого организма, но и клеточную смерть. Один из ключевых белков аутофагии — белок Beclin-1 — может образовывать комплекс с антиапоптотическим белком Bcl-2 (Beclin-1–Bcl-2), который усиливает апоптоз и снижает аутофагию (Kang et al., 2011; Liu et al., 2023). Распад этого комплекса может как предотвращать апоптоз, так и активировать аутофагию. Поэтому обнаруженная нами тенденция к увеличению содержания белка Beclin-1, который регулирует образование и созревание аутофагосом, свидетельствует как об активации аутофагии, так и об усилении влияния на молекулярные мишени апоптоза (Kang et al., 2011; Fernández et al., 2018; Liu et al., 2023).

Изучение роли белка LC3 в процессе аутофагии в настоящее время продолжается. Ранее было показано, что комплекс LC3/ATG8 играет центральную роль в аутофагии, перенося различные цитоплазматические материалы в лизосомы, где они разлагаются. В последних работах было обнаружено, что LC3B действует как РНК-связывающий белок и фактор распада мРНК, необходимый для эффективной аутофагии (Hwang et al., 2022).

В работе (Зенков и др., 2019) показано, что аутофагия может активировать систему антиоксидант-респонсивного элемента и повышать экспрессию генов антиоксидантных ферментов. В связи с этим активация аутофагии, вероятно, сопровождается повышением устойчивости к окислительному стрессу. При этом необходимо отметить, что КП, как и другие 3-гидроксипиридины, может также повышать активность антиоксидантных ферментов (Жигачева и др., 2024). Кроме того, входящий в состав КП L-карнитин, по-видимому, повышает устойчивость организма к стрессу за счет активации синтеза протекторных молекул: белков теплового шока и ряда антиоксидантов (Fernández et al., 2018).

На основании полученных данных можно заключить, что, с одной стороны, исследуемый препарат КП является адаптогеном, способным активировать экспрессию белка LC3, стимулируя аутофагию, защитная роль которой может быть полезной при многих патологиях, сопровождаю-

щихся развитием окислительного стресса, а также снижать риск онкогенеза. С другой стороны, аутофагия может быть причиной химиорезистентности и снижать эффективность противоопухолевой терапии (Зенков и др., 2019). В связи с обнаруженными свойствами можно предположить, что синтетический препарат КП может быть перспективным терапевтическим средством.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена по теме, утвержденной Министерством науки и высшего образования Российской Федерации: 44.4 «Комплексное изучение механизмов и эффектов действия природных и синтетических антиоксидантов, противоопухолевых препаратов, химических и физических факторов. Исследование механизмов биологического старения. Разработка новых методов терапии и диагностики социально-значимых заболеваний НИОКТР: 122041300207-2»

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работу с животными проводили в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS123), Strasburg, 1986), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях (Каркищенко, Грачева, 2010). Эксперименты одобрены комитетом по этике Института биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН (протокол № 19 от 25 сентября 2023 г., Москва).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Дюмаев К. М., Воронина Т. А., Смирнов Л. Д. 1995. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. М.: Ин-т Биомед. химии РАН. (Dyumaev K. M., Voronina T. A., Smirnov L. D. 1995. Antioxidants in the prevention and therapy of CNS

- pathologies. Moscow: Publishing House of the Institute of Biomed. Chem. Russ. Acad. Med. Sci.)
- Жигачева И. В., Русина И. Ф., Крикунова Н. И., Кузнецов Ю. В., Расулов М. М., Яковлева М. А., Голощапов А. Н. 2024. Предотвращение дисфункции митохондрий карнитином 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина. Биофизика. Т. 69.2. С. 252. (*Zhigacheva I. V., Rusina I. F., Krikunova N. I., Kuznetsov Y. V., Rasulov M. M., Yakovleva M. A., Goloshchapov A. N.* 2024. Prevention of mitochondrial dysfunction with 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine carnitinate. *Biophysika*. V. 69. No. 2. P. 294.)
<https://doi.org/10.31857/S0006302924020105>
- Зенков Н. К., Чечушков А. В., Кожин П. М., Мартинович Г. Г., Кандалинцева Н. В., Меньщикова Е. Б. 2019. Аутофагия как механизм защиты при окислительном стрессе. Бюллетень сибирской медицины. Т. 18. № 2. С. 195. (*Zenkov N. K., Chechushkov A. V., Kozhin P. M., Martinovich G. G., Kandalintseva N. V., Menshchikova E. B.* 2019. Autophagy as a defense mechanism under oxidative stress. *Bull. Siberian Med.* V. 18. No. 2. P. 195.)
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-2-195-214>
- Калугина К. К., Сухарева К. С., Чуркина А. И., Костарева А. А. 2021. Аутофагия как звено патогенеза и мишень для терапии заболеваний скелетно-мышечной системы. Росс. Физиол. журнал им. И. М. Сеченова. Т. 107. № 6—7. С. 810. (*Kalugina K. K., Sukhareva K. S., Churkina A. I., Kostareva A. A.* 2021. Autophagy as a link in the pathogenesis and a target for the therapy of diseases of the musculoskeletal system. *Sechenov Russ. Physiol. J.* V. 107. No. 6-7. P. 810.)
<https://doi.org/10.31857/S0869813921060042>
- Капица И. Г., Иванова Е. А., Воронина Т. А. 2019. Влияние мексидола на физическую и умственную работоспособность при стрессогенных воздействиях в эксперименте. Фармакокинетика и фармакодинамика, № 1. С. 12—17. (*Kapitsa I. G., Ivanova E. A., Voronina T. A.* 2019. The effect of mexidol on physical and mental performance under stressful influences in the experiment. *Pharmacokinetics Pharmacodynamics* (Russ.). No. 1. P. 12.)
<https://doi.org/10.24411/2587-7836-2019-10034>
- Каркищенко Н. Н., Грачева С. В. 2010. Справочник по лабораторным животным и альтернативам модели в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль. (*Karkishchenko N. N., Gracheva S. V.* 2010. Handbook of laboratory animals and model alternatives in biomedical research. Moscow: Profile.)
- Каркищенко В. Н., Каркищенко Н. Н., Шустов Е. Б., Берзин И. А., Фокин Ю. В., Алимкина О. В. 2016. Особенности интерпретации показателей работоспособности лабораторных животных по плавательным тестам с нагрузкой. Биомедицина. № 4. С. 34. (*Karkishchenko V. N., Karkishchenko N. N., Shustov E. B., Berzin I. A., Fokin Yu. V., Alimkina O. V.* 2016. Features of interpretation of performance indicators of laboratory animals according to swimming tests with load. *Biomed.* No. 4. P. 34.)
- Ковалева О. В., Шитова М. С., Зборовская И. Б. 2014. Аутофагия: клеточная гибель или способ выживания? Клиническая онкогематология. Т. 7. № 2. С. 103. (*Kovaleva O. V., Shitova M. S., Zbozrovskaya I. B.* 2014. Autophagy: cell death or a way of survival? *Clinical oncohematol.* V. 7. No. 2. P. 103.)
- Кукес В. Г., Парфенова О. К., Романов Б. К., Прокофьев, Е. В. Парфенова А. Б., Сидоров Н. Г., Газданова А. А., Павлова Л. И., Зозина В. И., Андреев А. Д., Чернова С. В., Раменская Г. В. 2020. Механизм действия этоксида на показатели окислительного стресса при сердечной недостаточности и гипертонии. СТМ. Клинические приложения. Т. 12. № 2. С. 67. (*Kukes V. G., Parfenova O. K., Romanov B. K., Prokofiev A. B., Parfenova E. V., Sidorov N. G., Gazdanova, A. A., Pavlova L. I., Zozina V. I., Andreev A. D., Aleksandrova T. V., Chernova S. V., Ramenskaya G. V.* 2020. The mechanism of action of ethoxidol on oxidative stress in dicesin heart failure and hypotension. *Modern Technol. Medicine*. V. 12. No. 2. P. 67.)
<https://doi.org/10.17691/stm2020.12.2.08>
- Меньщикова Е. Б., Чечушков А. В., Кожин П. И., Хольшин С. В., Кандалинцева Н. В., Мартинович Г. Г., Зенков Н. К. 2018. Синтетические монофенольные антиоксиданты активируют аутофагию в опухолевых клетках: зависимость от структуры и концентрации. Вестник ВолГУ. Серия 11. Естественные науки. 2018. Т. 8. № 1. С. 53. (*Menshchikova E. B., Chechushkov A. V., Kozhin P. M., Kholshin S. V., Kandalintseva N. V., Martinovich G. G., Zenkov N. K.* 2018. Activation of autophagy in tumor cells by synthetic monophenol antioxidants: dependence on structure and concentration. *Science VolSU. Natural Sci.* V. 8. No 1. P. 54.)
<https://doi.org/10.15688/jvolsu11.2018.1.10>
- Пожилова Е. В., Новиков В. Е., Новикова А. В. 2013. Роль фактора адаптации к гипоксии в развитии опухолей. Вестник Смоленской гос. мед. акад. Т. 12. № 3. С. 56. (*Pozhilova E. V., Novikov V. E., Novikova A. V.* 2013. The role of the factor of adaptation to hypoxia in the development of tumors. *Bull. Smolensk State Med. Acad.* V. 12. No. 3. P. 56.)
- Русина И. Ф., Касаикина О. Т., Кузнецов Ю. В., Трофимов А. В., Вепринцев Т. Л., Егорова Ю. Н. 2024. Соль 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина с гидратом карнитина, обладающая антиоксидантной активностью, и способ ее получения. Патент RU2817094 C1. 09.04.2024. (*Rusina I. F., Kasaikina O. T., Kuznetsov Yu. V., Trofimov A. V., Veprintsev T. L., Egorova Yu. N.* 2024. Salt of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine with carnitine hydrate, possessing anti-

- oxidant activity, and a method for its preparation. Patent RU2817094 C1. 09.04.2024.)
- Фрейдлин И. С., Маммедова Дж. Т., Старикова Э. А. 2019. Роль аутофагии при инфекциях. Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 2019. Т. 105. № 12. С. 1486. (Freidlin I. S., Mammedova J. T., Starikova E. A. 2019. The role of autophagy in infections. Russ. Physiol. Sechenov J. V. 105. No. 12. P. 1486.) <https://doi.org/10.1134/S0869813919120057>
- Aruoma O. I.; Halliwell B.; Hoey B. M.; Butler J. 1989. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. Free Rad. Biol. Med. V. 6. P. 593–597.
DOI 10.1016/0891-5849(89)90066-x
- Fernández Á. F., Wei S. Y., Zou Zh., Shi M., McMillan K. L., He C., Tin T., Liu Y., Chiang W-Ch., Marciano D. K., Schiattarella G., Bhagat G., Moe O. W., Hu M. Ch., Levine B. 2018. Disruption of the beclin 1-BCL2 autophagy regulatory complex promotes longevity in mice. Nature. V. 558. P. 136.
<https://doi.org/10.1038/s41586-018-0162-7>
- Fletcher B. I., Dillard C. D., Tappel A. L. 1973. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. Anal. Biochem. V. 52. P. 1. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(73\)90327-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90327-8)
- Hwang H. J., Ha H., Lee B. S., Kim B. H., Song H. K., Kim Y. K. 2022. LC3B is an RNA-binding protein to trigger rapid mRNA degradation during autophagy. Nature Commun. V. 13. Art. ID: 1436.
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-29139-1>
- Kang R., Zeh H. J., Lotze M. T., Tang D. 2011. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. Cell Death Differ. V. 18. P. 571.
<https://doi.org/10.1038/cdd.2010.191>
- Koukourakis M. I., Kalamida D., Giatromanolaki A., Zois Ch. E., Sivridis E., Pouliliou S., Mitrakas A., Gatter K. C., Harris A. L. 2015. Autophagosome proteins LC3A, LC3B and LC3C have distinct subcellular distribution kinetics and expression in cancer cell lines. PLoS One. V. 10. Art. ID: e0137675.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137675>
- Levine B., Klionsky D. J. 2004. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy Dev. Cell. V. 6. P. 463.
[https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(04\)00099-1](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(04)00099-1)
- Liu S., Yao S., Yang H., Liu S., Wang Y. 2023. Autophagy: regulator of cell death. Cell Death Disease. V. 14. No. 10. Art. ID: 648.
<https://doi.org/10.1038/s41419-023-06154-8>
- Mokhova E. N., Skulachev V. P., Zhigacheva I. V. 1977. Activation of the external pathway of NADH oxidation in liver mitochondria of cold-adapted rats. Biochim. Biophys. Acta. V. 501. P. 415.
[https://doi.org/10.1016/0005-2728\(78\)90109-3](https://doi.org/10.1016/0005-2728(78)90109-3)
- Okada H., Mak T. W. 2004. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. Nat. Rev. Cancer. V. 4. P. 592.
<https://doi.org/10.1038/nrc1412>
- Zhigacheva I. V., Krikunova N. I., Binyukov V. I., Mil E., Rusina I., Goloshchapov A. 2023a. Ethoxidol as a broad-spectrum adaptogen. Curr. Mol. Pharmacol. V. 16. P. 109.
<https://doi.org/10.2174/1874467215666220308115514>
- Zhigacheva I. V., Kricunova N. I., Rasulov M. M. 2023b. Adaptogenic properties of 1-(germatran-1-il)-oxyethylamine. Current Chem. Biol. V. 17. P. 49.
<https://doi.org/10.2174/2212796817666221205164816>
- Zhigacheva I. V., Rusina I. F., Krikunova N. I., Goloshchapov A. N., Veprintsev T. L., Yablonskaya O. I., Trofimov A. V. 2023c. Resveratrol and 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine N-acetyl cysteinate as protecting agents upon the stress exposure. Int. J. Mol. Sci. V. 24.
<https://doi.org/10.3390/ijms241713172>

2-ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINE CARNITINATE IS A BROAD-SPECTRUM ADAPTOGEN, THAT STIMULATES AUTOPHAGY IN LIVER TISSUE

E. M. Mil^{a,*}, I. V. Zhigacheva^a, M. A. Korovin^a, V. V. Kuvyrkova^a, L. I. Matienko^a,
A. A. Albantova^{a,**}, A. N. Goloshchapov^a, M. M. Rasulov^b

^a Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334, Russia

^b State Research Institute of Chemistry and Technology of Organoelement Compounds, Moscow, 105118, Russia

*e-mail: elenamil2004@mail.ru

**e-mail: albantovaaa@mail.ru

Background: Under stress conditions, mitochondria become sources of excessive generation of reactive oxygen species (ROS), which can serve either as signaling molecules or damage cell structures. Antioxidants, reducing ROS generation, can serve as adaptogens to stress effects. It has been shown that a number of antioxidants are able to induce autophagy, which is able to activate the antioxidant-response element system. In this regard, the aim of the study was to investigate the anti-stress properties of a new antioxidant 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine carnitinate (CP) and its ability to activate the synthesis of autophagy proteins Beclin-1, LC3. **Methods:** Since the body's resistance to stress factors primarily depends on energy metabolism, the effects of acute hypobaric hypoxia and CP on the LPO intensity in the lipid fraction of mice liver mitochondrial membranes were studied using the spectrofluorescence method. Autophagy proteins were determined by Western blotting using primary mice antibodies to Beclin-1 and LC3B proteins, as well as secondary antibodies labeled with horseradish peroxidase. **Results:** Injection of 10^{-6} mol/kg CP to mice for 5 days prevented the growth of LPO intensity under conditions of acute hypobaric hypoxia (AHH). This drug increased life expectancy and increased survival of mice under conditions of various types of the hypoxia. The initiation of autophagy biomarker proteins (LC3B) by the drug was shown. At the same time, the content of Beclin-1 proteins tended to increase, which characterizes the onset of the autophagy process. **Conclusion:** The new antioxidant CP can probably be used as an adaptogen to various types of hypoxia and an activator of autophagy.

Keywords: antioxidants, 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine carnitinate, hypoxia, autophagy, Beclin-1, LC3B