

3-ОКСИПИРИДИНЫ ПРЕДОТВРАЩАЮТ ДИСФУНКЦИЮ МИТОХОНДРИЙ, ОБУСЛОВЛЕННУЮ ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИКРОДОЗ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Жигачева И.В.¹, Русина И.Ф.², Генерозова И.П.³

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
ул Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ; e-mail: zhigacheva@mail.ru

² ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН
ул Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ; e-mail: rusina939@mail.ru

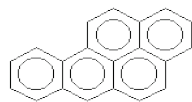
³ ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, г. Москва, 127276, РФ; e-mail: igenozova@mail.ru

Поступила в редакцию: 09.04.2018

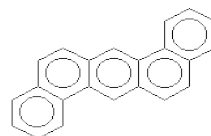
Аннотация. Исследованы антирадикальные, антиоксидантные и противотоксические свойства производных 3-гидроксипиридина (3-ОП), в частности N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (3-ОП). Показаны высокие значения антирадикальной активности этого препарата. В модельных экспериментах препарат предотвращал активацию ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс и митохондрий проростков гороха в диапазоне концентраций 10^{-6} - 10^{-16} М. Он снижал интенсивность ПОЛ до контрольных значений в условиях затравки животных газо-воздушной смесью, содержащей полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), которая вызывала 6-кратный рост интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий печени. Предупреждение ПОЛ способствовало сохранению функциональной активности митохондрий. Обладая антирадикальной и антиоксидантной активностью препарат предупреждал индукцию цитохрома P450 в ткани печени при затравке животных ПАУ, что свидетельствовало о наличии у него антиоксических свойств.

Ключевые слова: производные 3-гидроксипиридина, полициклические ароматические углеводороды, митохондрии, ПОЛ.

В окружающей среде обнаружено несколько сотен ПАУ [1]. Последствия длительного воздействия этих соединений на организм начали детально исследовать более 100-150 лет назад [2]. Интерес исследователей к этим токсикантам связан с высокими канцерогенными свойствами ПАУ. Характерные особенности строения этих соединений отражают структуры классических представителей группы: бензо(а)пирена и бенз(а,h)антрацена:



Бензо(а)пирен



Дибензо (а,h)антрацен

ПАУ возникают как продукт абиогенного происхождения в результате термических превращений органических структур: в результате вулканической деятельности, во время природных пожаров: горении леса, торфа, травяного покрова [3]. Наиболее характерным и наиболее распространенным в ряду ПАУ является бенз(а)пирен (БП): Доля БП в общем количестве ПАУ невелика (1-20 %). Его делают значимым:

- Активная циркуляция в биосфере
- Высокая молекулярная устойчивость
- Значительная проканцерогенная активность

БП хорошо растворим в органических растворителях, тогда как в воде он растворим чрезвычайно мало. Абиотический синтез БП при горении леса, торфа, торфяного покрова составляет до 5 т год [3]. Формирование природного фона ПАУ возможно также за счет биотического синтеза БП при участии анаэробных бактерий и водорослей, в частности хлореллы [4]. Однако, основная масса ПАУ в окружающей среде имеет антропогенное происхождение. Главными источниками ПАУ являются: бытовые, промышленные сбросы, смывы, транспорт, аварии. Антропогенный поток ПАУ в частности бенз(а)пирена (БП) составляет примерно 30 т год [5]. В настоящее время загрязнение полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ) носит глобальный характер. Их присутствие обнаружено во всех элементах природной среды (воздух, почва, вода, биота) от Арктики до Антарктиды.

Большинство биологических эффектов ПАУ опосредуется через арил-углеводородный рецептор (AhR-зависимая экспрессия генов) [6]. AhR является членом семейства факторов транскрипции, которые регулируют несколько генов, в том числе членов семейства цитохрома P450, таких как CYP1A1 [7]. В ходе биологического окисления ароматических углеводородов инициируются свободнорадикальные процессы в клетках, образуются ареноксины, формирующие ковалентные связи с нуклеофильными структурами клеток (белками,

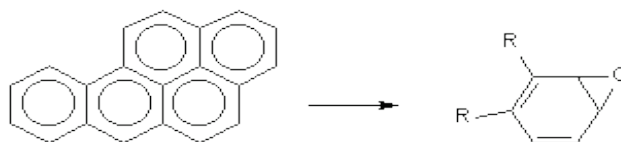
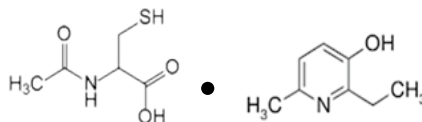


Рисунок 1. Образование ареноксидов в процессе метаболизма ароматических полициклических углеводов при участии оксидаз смешанных функций (ОСФ) [8]

сульфгидрильными группами, нуклеиновыми кислотами и т.д.). Они активируют перекисное окисление липидов биологических мембран, в том числе и в мембранах митохондрий (рис. 1) [8, 9].

Одним из наиболее опасных последствий длительного воздействия этих токсикантов на организм является снижение реактивности иммунной системы [10]. Не менее важным показателем является энергетический статус, определяющий адаптивные возможности организма. Установлено, что повреждающее действие активных форм кислорода на дыхательную активность связано с их действием на кардиолипид, который необходим для нормального функционирования ферментных комплексов [11]. Кроме того, пероксидация липидов мембран и, прежде всего кардиолипина, приводит к набуханию митохондрий, выходу цитохрома С и, возможно, к индукции апоптоза [12].

Исходя из этого, можно было предположить, что препараты, предотвращающие токсическое действие ПАУ, вероятно, должны обладать антирадикальными и антиоксидантными свойствами. Мы предположили, что такими свойствами обладают антиоксиданты. В связи с этим в качестве объекта исследования были выбраны производные 3-гидроксипиридина (3-ОП), в частности N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (3-ОП), ингибирование ПОЛ которым могло быть обусловлено наличием гидроксила фенольного типа при сопряженной циклической системе связей:



N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина

Биологическая активность производных 3-ОП обусловлена, в частности, тем, что они являются структурными аналогами соединений группы пиридоксина (витамина В₆), имеющих значение в жизнедеятельности организма, в том числе выполняющих роль физиологических антиоксидантов. В связи с этим целью было проведено исследование антирадикальных свойств нового синтезированного водорастворимого ингибитора N-ацетилцистеината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина методом хемиллюминесценции и изучение его влияния на энергетический статус крыс, длительно затравливаемых искусственной газо-воздушной смесью, содержащей такое же количество ПАУ, которое находится в воздухе промышленной зоны и вблизи оживленных автомагистралей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили на митохондриях печени крыс Вистар массой 120-130 г.

При исследовании влияния ПАУ на биологические показатели использовали искусственную газо-воздушную смесь, содержащую такое же количество ПАУ, которое содержится в воздухе промышленной зоны, вблизи оживленных автомагистралей и в накуранных помещениях [13, 14] (табл. 1).

Затравку животных осуществляли в камере объемом 10 л, куда подавалась газо-воздушная смесь. В камеру помещали по 4-5 животных, где они находились в течение 40 сек. Через каждые 30-40 мин процедура повторялась. Количество повторов 6 в сутки.

Для исследования антиоксидантной активности препарата использовали митохондрии 5-дневных этиолированных проростков гороха (*Pisum sativum* L), сорт Флора-2.

Таблица 1. Состав искусственной газо-воздушной смеси (нг/м³)

ПАУ	Количество
Пирен	5,40
Бенз(а)пирен	5,50
Бенз(е)пирен	6,30
Перилен	1,70
Дибенз(а,h)антрацен	1,00
Дибенз(а,с) антрацен	1,20
Дибенз(г,h,i)перилен	5,00
Бензантрацен	1,10

При этом **семена гороха** промывали водой с мылом и 0,01 % раствором KMnO_4 и в течение 30 мин. замачивали в воде. Затем семена помещали на влажную фильтровальную бумагу, где они находились в темноте при температуре 24 °C в течение 5 суток. На пятые сутки выделяли митохондрии из эпикотилей проростков.

Выделение митохондрий из эпикотилей этиолированных проростков гороха проводили методом дифференциального центрифугирования (при 25000 g в течение 5 мин и при 3000 g в течение 3 мин) [15]. Осаждение митохондрий проводили в течение 10 мин при 11000 g. Осадок ресуспендировали в 2-3 мл среды, содержащей: 0,4 M сахарозу, 20 mM KH_2PO_4 (pH 7.4), 0,1 % БСА (свободный от жирных кислот) и вновь осаждали митохондрии при 11000 g в течение 10 мин.

Выделение митохондрий печени проводили методом дифференциального центрифугирования [16]. Первое центрифугирование при 600 g в течение 10 минут, второе – при 9000 g, 10 минут. Осадок ресуспендировали в среде выделения. Соотношение ткань: среда – 1:25. Среда выделения: 0,25 M сахароза, 10 mM HEPES, pH 7,4.

Скорости дыхания митохондрий печени крыс регистрировали электродом типа Кларка, используя полярограф LP-7 (Чехия). Среда инкубации митохондрий содержала: 0,25 M сахарозу, 10 mM Трис- HCl , 5 mM MgSO_4 , 2 mM KH_2PO_4 , 10 mM KCl (pH 7.5) (28 °C).

Перекисное окисления липидов (ПОЛ) оценивали флуоресцентным методом [17]. Липиды экстрагировали смесью хлороформ: метанол = 2:1 (по объему) из митохондрий, содержащих 3-5 мг белка. Соотношение митохондрии: смесь хлороформ-метанол = 1:10. Регистрацию флуоресценции проводили в десяти миллиметровых кварцевых кюветах на спектрофлуориметре FluoroMax-HoribaYvonGmbH (Германия). В контрольную кювету добавляли 3 мл хлороформа, а затем 0,3 мл метанола. Длина волны возбуждения флуоресценции была 360 нм, испускания – 420-470 нм.

Антирадикальную активность (АРА) N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (3-ОП) оценивали хемиллюминесцентным методом (ХЛ) по эффекту торможения жидкофазного окисления этилбензола (60°), которое инициировали термическим распадом азобисизобутиро-нитрила, (АИБИН). Интенсивность ХЛ усиливали 9,10-дибромантраценом. Эффективную константу ингибирования k_{INH} рассчитывали из серии ХЛ кривых с разной концентрацией 3-ОП [18]. Полученные результаты соотносили с данными, полученными с использованием известных антиоксидантов α -токоферола и хромана С1 (аналога α -токоферола).

В ткани печени исследуемых групп животных измеряли амплитуду сигналов ЭПР с g-фактором 2,25 (цитохром P450) и с g-фактором 1,94, обусловленным железосерными белками, локализованными в электрон-транспортных цепях митохондрий. Измерения проводили на ЭПР спектрометре фирмы "Bruker" (Германия), при 77 К. Амплитуду сигналов ЭПР относили к весу образца и сравнивали с аналогичными параметрами контрольной группы животных.

В эксперименте использовали реактивы следующих фирм: метанол, хлороформ (Merck, Германия), сахароза, Трис, ЭДТА, FCCP, малат, глутамат, сукцинат ("Sigma Aldrich," США); БСА, (свободный от ЖК) ("Sigma Aldrich," США); HEPES ("MP Biomedicals", Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку при биологическом окислении полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) инициируется свободнорадикальное окисление, приводящее к активации ПОЛ в том числе и в мембранах митохондрий, антирадикальную и антиоксидантную активности 3-ОП исследовали на модели «старения» (инкубация митохондрий печени крыс или митохондрий проростков гороха в гипотонической среде при комнатной температуре). Чтобы активировать ПОЛ митохондрии печени на 15 мин помещали в 0,5 мл среды, содержащей 70мM KCl , 10 mM HEPES и 1мM KH_2PO_4 , pH 7,4. В мембранах митохондрий проростков гороха использовали среду, содержащую 0,2 M сахарозу, 10 mM HEPES и 1 mM KH_2PO_4 , pH 7,4.

Инкубация митохондрий в гипотонических растворах вызывала слабое набухание митохондрий и рост генерации АФК, что нашло отражение в увеличении интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ в 3-4 раза (рис. 2). Введение препарата в среду инкубации митохондрий приводило к снижению интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ как в мембранах митохондрий печени крыс, так и в мембранах митохондрий проростков гороха, что указывало на наличие у исследуемого препарата антирадикальной и, следовательно, антиоксидантной активности. Действительно, измеренные методом хемиллюминесценции значения антирадикальной активности ингибитора N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (3-ОП) - k_{INH} составляют 3,3-3,84, $k_{\text{INH}} \times 10^4$ (Mc)⁻¹. На основании полученных данных можно предположить, что данный препарат можно использовать и как адаптоген, и как регулятор роста и развития растений. При этом наиболее эффективными концентрациями являлись 10^{-6} - 10^{-16} M. В связи с этим в наших последующих экспериментах мы использовали препарат в концентрации 10^{-6} M.

В следующей серии экспериментов исследовали антиоксидантные свойства 3-ОП. Для этого изучали содержание цитохрома P450 в ткани печени крыс, длительно затравливаемых искусственной газо-воздушной смесью и крыс, которым одновременно с затравкой 2 раза в сутки вводили препарат 10^{-6} моль/кг. Спустя 1-1,5 месяца затравки крыс этой смесью содержание цитохрома P450 в ткани печени снижалось на 30 %, что свидетельствует о токсическом эффекте [8] (рис. 3).

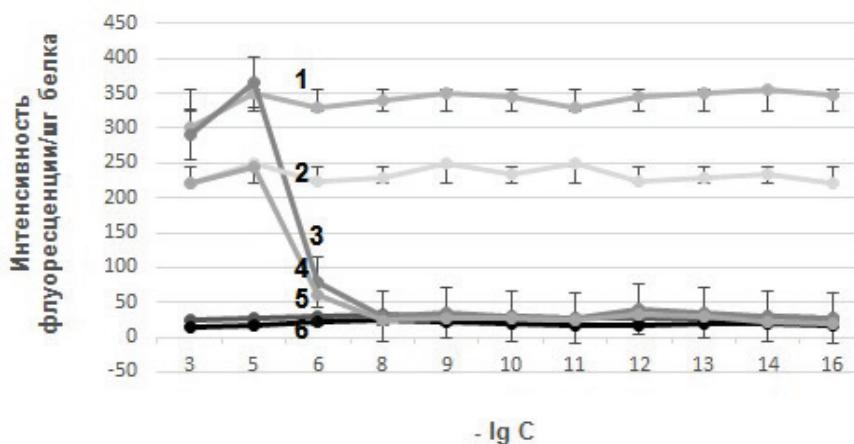


Рисунок 2. Влияние «старения» митохондрий печени, митохондрий проростков гороха и различных концентраций 3-ОП на интенсивность флуоресценции конечных продуктов ПОЛ (Основания Шиффа). 1 – «старение» митохондрий проростков гороха; 2 – «старение» митохондрий печени; 3 – «старение» митохондрий проростков гороха + 3-ОП; 4 – «старение» митохондрий печени + 3-ОП; 5 – контроль (митохондрии проростков гороха); 6 – контроль (митохондрии печени)

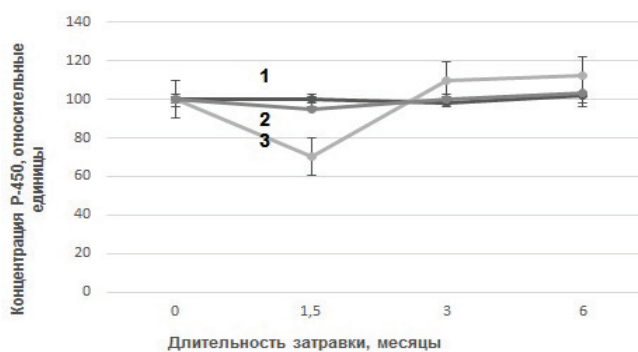


Рисунок 3. Содержание P450 в ткани печени крыс при затравке газо-воздушной смесью. Условные обозначения: 1 – контроль; 2 – газо-воздушная смесь+3-ОП; 3 – газо-воздушная смесь

3-6 месячная экспозиция крыс газо-воздушной смесью приводит к повышению содержания цитохрома P450 в ткани печени на 10-12 %. Увеличение концентрации цитохрома P450 при длительном воздействии токсикантов, в частности ПАУ, отражает индукцию фермента этими веществами и может иметь следствием биоактивацию проканцерогенов. В печени группы крыс, которым до затравки вводили N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридин снижение содержания цитохрома P450 после 1,5-месяцев составило 5 %, а спустя 3-6 месяцев его содержание в ткани печени почти не отличалось от контроля. Полученные данные могут свидетельствовать о наличии антиоксидантных свойств у исследуемого препарата.

Данные по влиянию длительной затравки газо-воздушной смесью крыс на энергетику митохондрий печени подтверждают данный вывод. Месячная затравка животных не очищенной газо-воздушной смесью приводила к некоторым изменениям в энергетике митохондрий печени. Почти в 2 раза снижались максимальные скорости окисления НАД-зависимых субстратов с $26,7 \pm 2,0$ до $13,6 \pm 1,7$ нмоль O_2 /мг белка \times мин (в присутствии АДФ) и с $28,5 \pm 1,8$ до $14,6 \pm 1,9$ (в состоянии покоя) (табл. 2).

Таблица 2. Влияние месячной затравки крыс искусственной газо-воздушной смесью на скорости окисления над-зависимых субстратов и сукцината митохондриями печени белых крыс (Приведены данные 8 экспериментов. Скорости дыхания в нмолях O_2 /мг белка \times мин)

Группа	V_0	V_3	V_4	V_3/V_4	V_{FCCP}
4 мМ глутамат, 1 мМ малат					
Контроль	$7,3 \pm 0,9$	$26,7 \pm 2,0$	$8,5 \pm 0,8$	$3,14 \pm 0,03$	$28,5 \pm 1,8$
ГВС	$8,6 \pm 1,0$	$13,6 \pm 1,7$	$6,3 \pm 0,9$	$2,16 \pm 0,03$	$14,6 \pm 1,9$
ГВС+3ОП	$6,9 \pm 1,4$	$27,3 \pm 2,1$	$8,40 \pm 0,7$	$3,25 \pm 0,02$	$29,0 \pm 1,8$
5 мМ сукцинат					
Контроль	$9,4 \pm 1,2$	$22,3 \pm 1,7$	$12,9 \pm 0,8$	$1,7 \pm 0,01$	$22,9 \pm 2,2$
ГВС	$4,1 \pm 1,4$	$19,9 \pm 1,8$	$11,7 \pm 1,0$	$1,7 \pm 0,01$	$21,7 \pm 0,6$
ГВС+3ОП	$8,0 \pm 1,5$	$24,2 \pm 2,0$	$12,1 \pm 1,3$	$2,0 \pm 0,02$	$25,8 \pm 1,9$

Таблица 3. Влияние 6-месячной затравки крыс искусственной газо-воздушной смесью на скорости окисления над-зависимых субстратов и сукцината митохондриями печени белых крыс (Приведены данные 10 экспериментов. Скорости дыхания в нмолях O_2 /мг белка х мин)

Группа	V_0	V_3	V_4	V_3/V_4	V_{FCCP}
4 мМ глутамат, 1 мМ малат					
Контроль	8,2±1,7	28,7±2,0	8,0±0,8	3,61±0,03	29,7±1,9
ГВС	5,6±2,3	27,6±1,7	8,0±0,9	3,45±0,03	28,6±2,1
ГВС+ЗОП	7,8±1,6	28,3±2,2	7,93±0,9	3,57±0,02	29,0±1,8
5мМ сукцинат					
Контроль	8,6±1,5	30,4±1,4	11,3±0,8	2,70±0,04	29,8±1,8
ГВС	6,6±1,0	18,9±2,7	11,8±1,3	1,6±0,02	22,4±1,9
ГВС+ЗОП	8,1±1,2	31,0±2,7	10,9±2,2	2,85±0,03	31,8±1,7

Состав среды инкубации и условные обозначения как в таблице 2.

Среда инкубации содержала: 0,2 М сахарозу, 10мМ трис-HCl, 2 мМ $MgSO_4$, 2 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ KCl, pH 7,5. Дополнительные добавки: 200 мкМ ADP, 10^{-6} М FCCP (карбонилцианид-4-(трифторметокси)фенилгидразон). V_0 – скорости окисления субстратов; V_3 – скорости дыхания митохондрий в присутствии АДФ; V_4 – скорости дыхания в состоянии покоя (после истощения АДФ); ГВС – газо-воздушная смесь.

При этом уменьшалась и эффективность окислительного фосфорилирования: величина дыхательного контроля (V_3/V_4) падала с $3,14 \pm 0,03$ до $2,16 \pm 0,03$. Однако скорости окисления сукцината не изменялись. Спустя 3-6 месяцев от начала затравки максимальные скорости окисления НАД-зависимых субстратов возвращались к норме, а скорости окисления сукцината снижались в 1,5 раза (табл. 3).

Кроме того, в ткани печени на 14 % падал сигнал ЭПР с $g = 1,94$, обусловленный железосерными белками, входящими в состав мембран митохондрий. Можно предположить, что при действии ПАУ активируются процессы дегградации митохондрий, что свидетельствует об индукции апоптоза. [19, 20]. Введение крысам З+ОП предотвращало падение сигнала ЭПР с g -фактором 1,94 и изменения биоэнергетических характеристик митохондрий печени крыс. Полученные нами и литературные данные свидетельствуют, что ПАУ, вероятно, индуцируют апоптоз за счет токсического влияния на функциональное состояние митохондрий [20]. Свидетельством этому является снижение мембранного потенциала митохондрий и 15-50 % снижение максимальных скоростей окисления как НАД-зависимых субстратов, так и сукцината митохондриями скелетных мышц, печени и кожи при затравке животных этими токсикантами [21]. Отметим, что митохондрии крыс, которым одновременно с затравкой 2 раза в сутки вводили N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридин, по энергетическим характеристикам не отличались от митохондрий контрольной группы.

Изменения в энергетике митохондрий могут быть обусловлены активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ). Действительно, в мембранах митохондрий, затравливаемых искусственной газо-воздушной смесью крыс интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ была почти в 6,5 раз выше, чем в мембранах митохондрий контрольной группы животных (рис. 4). Затравка крыс, которым одновременно с затравкой газо-воздушной смесью вводили препарат 10^{-6} моль/кг, не вызывает значительной активации ПОЛ в мембранах митохондрий печени.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что протекторная активность N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина обусловлена его антирадикальными, антиоксидантными и противотоксическими свойствами. Препарат, предотвращая активацию ПОЛ, вероятно, предохраняет ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов мембран митохондрий, от перекисного окисления, таким образом предупреждая снижение содержания кардиолипина во внутренней мембране митохондрий и активацию апоптоза [21].

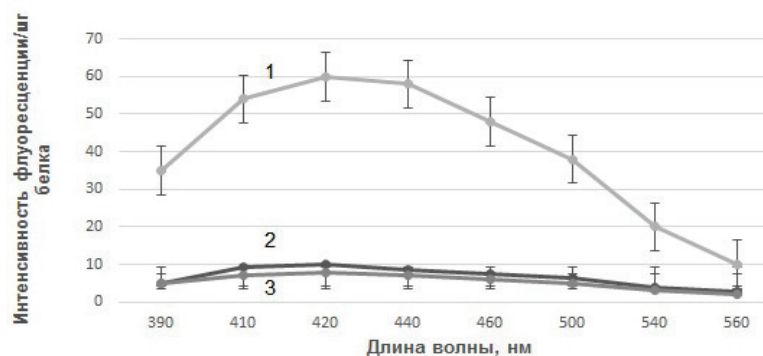


Рисунок 4. Спектры флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий печени при затравке крыс газо-воздушной смесью, содержащей ПАУ

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (0082-2018-0006, № АААА-А18-118020890097-1; 0084-2014-0004). Регистрации в ЦИТус (01201-253-310).

Список литературы / References:

1. Пшенин В.Н. Транспорт как источник полициклических ароматических углеводородов в окружающей среде. *Наука, техника и управление. Транспорт*, М.: ВИНТИ, 1995, с. 27-42. [Pshenin V.N. Transport as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment. *Science, technology and management. Transport*, M.: Institute of Scientific and Technical Information, 1995, pp. 27-42. (In Russ.)]
2. Proctor R.N. Tobacco and Health. *Journal of Philosophy. Science & Law*, 2004, no. 4, pp. 2-32.
3. Estabrook R., Lanirigan Ph., Cohn V. [et al.] *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Evolution of Sources and Effects*, Washington: National Academy Press, 1983, 476 p.
4. Зилов А. Гидробиология и водная экология. *Организация, функционирование и загрязнение водных экосистем*, Иркутск: Иркут. ун-т, 2008, 138 с. [Zilov A. Hydrobiology and water ecology. *Organization, functioning and pollution of aquatic ecosystems*, Irkutsk: Irkut. University, 2008, 138 p. (In Russ.)]
5. Ларин С.А., Громов К.Г., Мун С.А. Вклад приоритетных канцерогенов в развитии злокачественных новообразований среди населения г. Кемерово. *Фундаментальные и прикладные исследования в медицине, 1-8 октября 2005г.*, Лутраки (Греция): Наука, 2005, с. 235-236. [Larin S.A., Gromov K.G., Moon S.A. The contribution of priority carcinogens in the development of malignant neoplasms among the population of Kemerovo. *Fundamental and applied research in medicine, October 1-8, 2005*, Loutraki (Greece): Science, 2005, pp. 235-236. (In Russ.)]
6. Nebert D.W., Roe A.L., Dieter M.Z., Solis W.A., Yang Y., Dalton T.P. Role of the aromatic hydrocarbon receptor and [Ah] gene battery in the oxidative stress response, cell cycle control and apoptosis. *Biochem. Pharmacol.*, 2000, vol. 59, pp. 65-85.
7. Burczynski M.E., Penning T.M. Genotoxic polycyclic aromatic hydrocarbon ortho-quinones generated by aldo-keto reductases induce CYP1A1 via nuclear translocation of the aryl hydrocarbon receptor. *Cancer Res.*, 2000, vol. 60, pp. 908-915.
8. Куценко С.А. *Основы токсикологии*. СПб.: Фолиант, 2002, 720 с. [Kutsenko S.A. *Fundamentals of Toxicology*. St. Petersburg: Folio, 2002, 720 p. (In Russ.)]
9. Ying Yin, Haixia Jia, Yuanyuan Sun, Hongxia Yu, Xiaorong Wang, Jichun Wu, Yuqun Xue. Bioaccumulation and ROS generation in liver of *Carassius auratus*, exposed to phenanthrene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2007, vol. 145, iss. 2, pp. 288-293.
10. Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Евсеенко Л.С., Кривошеева Л.В., Буланова Е.Г., Никонова М.Ф., Литвина М.М., Христианович Д.С., Воронков М.Г. Гуморальный иммунитет. Полициклические ароматические углеводороды и нитрозамин. *ДАН*, 2002, т. 383, № 6, с. 834-837. [Zhigacheva I.V., Burlakova E.B., Evseenko L.S., Krivosheeva L.V., Bulanova Ye.G., Nikonova M.F., Litvina M.M., Khristianovich, D.S., Voronkov M.G.. Humoral immunity. Polycyclic aromatic hydrocarbons and nitrosamines. *Doklady Akademii Nauk*, 2002, vol. 383, no. 6, pp. 834-837. (In Russ.)]
11. Vladimirov Yu.A., Olenov V.I., Suslova T.V., Cheremisina Z.V. Lipid peroxidation in mitochondrial membrane. *Adv. Lipid Res.*, 1980, vol. 17, no. 1, pp. 173-249.
12. Проскурнина, Е.В., Владимиров Ю.А. Свободные радикалы как участники регуляторных и патологических процессов. *Биофизические медицинские технологии*. М: МАКС Пресс, 2015, с. 38-71. [Proskurnina, E.V., Vladimirov Yu.A. Free radicals as participants in regulatory and pathological processes. *Biophysical medical technologies*. M: MAX Press, 2015, p. 38-71. (In Russ.)]
13. Заридзе Д.Г. Эпидемиология, механизмы канцерогенеза и профилактика рака. *Архив патологий*, 2002, № 2, с. 53-61. [Zaridze D. G. Epidemiology, mechanisms of carcinogenesis and cancer prevention. *Archives of pathology*, 2002, no. 2, с. 53-61. (In Russ.)]
14. Заридзе Д.Г. *Канцерогенез*. М.: Медицина, 2004, 500 с. [Zaridze D.G. *Carcinogenesis*. M.: Medicine, 2004, 500 p. (In Russ.)]
15. Попов В.Н., Руге Э.К., Старков А.А. Влияние ингибиторов электронного транспорта на образование активных форм кислорода при окислении сукцината митохондриями гороха. *Биохимия*, 2003, т. 68, № 7, с. 910-916. [Popov V.N., Ruge E.K., Starkov A.A. Effect of inhibitors of electronic transport on the formation of reactive oxygen species during the oxidation of succinate by pea mitochondria. *Biochimia (Biochemistry)*, 2003, vol. 68, no. 7, pp. 910-916. (In Russ.)]
16. Mokhova E.N., Skulachev V.P., Zhigacheva I.V. Activation of external pathway of NADH oxidation in liver mitochondria of old adapted rats. *BBA*, 1977, vol. 501, pp. 415-423.
17. Fletcher B.I., Dillard C.D., Tappel A.L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Anal. Biochem.*, 1973, vol. 52, pp. 1-9.
18. Шляпинтох В.Я., Карпукхин О.Н., Постников Л.М., Захаров И.В., Вичутинский А.А., Цепалов В.Ф. Хемилуминесцентные методы исследования медленных химических процессов. М.: Наука, 1966, 300 с. [Shlyapintok V.Ya., Karpukhin O.N., Postnikov L.M., Zakharov I.V., Vichutinsky A.A., Tsepalov V.F. Chemiluminescent methods for studying slow chemical processes. Moscow: Nauka, 1966, 300 p. (In Russ.)]
19. Solhaug A., Refsnes M., Låg M.T., Schwarze P. E., Husøy T., Holme J. A. Polycyclic aromatic hydrocarbons induce both apoptotic and anti-apoptotic signals in Hepa1c1c7 cells. *Carcinogenesis*, 2004, vol. 25, no. 5, pp. 809-819.

20. Hiura T.S., Li N., Kaplan R., Horwitz M., Jean-Clare Seagrave, Nel A.E. The Role of a Mitochondrial Pathway in the Induction of Apoptosis by Chemicals Extracted from Diesel Exhaust Particle. *The Journal of Immunology*, 2000, vol. 165, pp. 2703-2711

21. Reed L.K, Carroll J. R, McGirk M. E, Stabenau E.K. Mitochondrial oxygen consumption and ATP content in control and pyrene-exposed frogs. *Journal of Environmental Science and Health, part A*, 2006, vol. 43, no. 6, pp. 576-583.

3-OXYPYRIDINES PREVENT THE MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION DUE TO THE INFLUENCE OF THE MICRO-DOSES OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

Zhigacheva I.V.¹, Rusina I.F.², Generosa I.P.³

¹ Emanuel Institute of Biochemical Physics Russian Academy of Sciences,
Kosygin St., 4, Moscow, 119334, Russia; e-mail: zhigacheva@mail.ru

² Semenov Institute of Chemical Physics Russian Academy of Sciences
Kosygin St., 4, Moscow, 119334, Russia; e-mail: rusina939@mail.ru

³ K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences
Botanicheskaya St., 35, Moscow, 127276, Russia; e-mail: igenerozova@mail.ru

Abstract. Antiradical, antioxidant and anti-toxic properties of 3-hydroxypyridine derivatives (3-OP), in particular N-acetylcysteine 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine (3-OP), were studied. High values of antiradical activity of this preparation are shown. In model experiments, the drug prevented the activation of lipid peroxidation in the membranes of rat liver mitochondria and pea seedlings mitochondria in the concentration range 10^{-6} - 10^{-16} M. He reduced the intensity of LPO up to control values under conditions of treatment animals with a gas-air mixture, containing polycyclic aromatic hydrocarbons PAH, which caused a 6-fold increase in fluorescence intensity of LPO products in membranes of liver mitochondria. Averting of LPO contributed to the preservation of the functional activity of mitochondria Possessing antiradical and antioxidant activity, the preparation prevented the induction of cytochrome P-450 in liver tissue in case of processing animals with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), indicating the presence at him of detoxification properties.

Key words: 3-hydroxypyridine derivatives, polycyclic aromatic hydrocarbons, mitochondria, LPO.