

## АСТРАГЕРМ – АКТИВАТОР ЭКСПРЕССИИ ГЕНА КООКТИВАТОРА ПЕРОКСИСОМ

<sup>1</sup>Солупаева Л.В., <sup>5</sup>Расулов М.М.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Липецкий государственный педагогический университет имени П.П. Семёнова - Тянь-Шанского», Липецк;

<sup>5</sup>ГНИИХТЭОС, Москва.

### Резюме

Изучено действие биологически активной добавки «астрагерм» на активность PGC-1- alpha. Показано активирующее действие астрагерма на экспрессию PGC-1- alpha в «in vivo» системе в тканях мышц крысы. Применены методы количественной оценки митохондрий в тканях и анализ экспрессии генов включенных в каскады регуляторных процессов энергетического метаболизма. Обнаружена согласованная стимуляция экспрессии гена триптофанил-тРНК-синтетазы, ее неканонической активности по синтезу вторичного мессенджера Ap<sub>3</sub>A и экспрессии гена PGC-1 alpha в системах «in vivo», при действии астрагерма, что указывает на единство механизмов энергетической регуляции с функциями белкового синтеза и неспецифического иммунитета.

**Ключевые слова:** герматраны, ген коактиватора PGC-1- $\alpha$ , миоциты, метаболизм.

## ASTRAGERM - ACTIVATOR OF GENE EXPRESSION PEROXISOMS COACTIVATOR

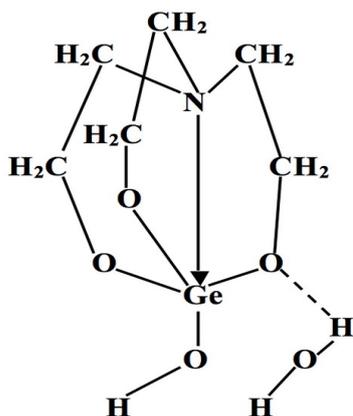
Solupaeva L.V., Rasulov M.M.

### Summary

The effect of the biologically active additive "Astragerm" on the activity of PGC-1-alpha was studied. The activating effect of astragerm on the expression of PGC-1-alpha in the "in vivo" system in rat muscle tissues was shown. Methods for quantitative assessment of mitochondria in tissues and analysis of the expression of genes included in the cascades of regulatory processes of energy metabolism were applied. Coordinated stimulation of tryptophanyl-tRNA synthetase gene expression, its non-canonical activity in the synthesis of the second messenger Ap<sub>3</sub>A, and expression of the PGC-1 alpha gene in in vivo systems under the action of astragerm was found, which indicates the unity of the mechanisms of energy regulation with the functions of protein synthesis and nonspecific immunity.

**Key words:** germatrans, PGC-1- $\alpha$  coactivator gene, myocytes, metabolism.

Выяснение механизма обеспечения клеточного гомеостаза приобретает в настоящее время особое значение в связи с накоплением данных о роли метаболических маршрутов и комплексов генов в процессе жизнедеятельности клеток. При этом одним из ключевых генов в этих маршрутах, является ген коактиватора 1 $\alpha$  рецептора активатора пероксисом (PGC-1  $\alpha$ ). Этот ген регулирует уровень оксидативного стресса, биогенез митохондрий и процессы увеличения энергетического обеспечения тканей в условиях различных видов стресса [6, 8, 11, 15]. Поэтому, изменение активности тканеспецифической экспрессии гена коактиватора PGC-1  $\alpha$  может служить критерием эффективности адаптогенных препаратов. Как известно, протатраны - триэтаноламмониевые соли ароксисукусных кислот снижают поражение эластических волокон и стабилизируют клеточные мембраны [9]. Особо интересными представителями этого класса соединений являются герматраны - с общей формулой  $XGe(OCH_2CH_2)_3N$ . [1, 5, 10]. Одним из таких герматранов является (1- гидроксигерматран моногидрат), соответствующий брутто- формуле:  $C_6H_{15}GeNO_5$  (далее – *астрагерм*) и имеющий следующий вид:



тормозит, например, развитие атеросклероза в экспериментах с «холестериновой нагрузкой» у кроликов, т.е. в условиях эндогенного стресса [6, 8, 11], модулируя липопротеиновый обмен и указывает на необходимость дальнейшего изучения влияния герматранов на адаптивные возможности организма на разных уровнях биологической организации [3, 7]. В связи с этим изучение влияния астрагерма (АГ) на активность экспрессии гена коактиватора PGC-1 $\alpha$  весьма актуально. Этому посвящена данная статья.

**Материалы и методы.** Исследования проведены на 30 белых беспородных лабораторных крысах обоего пола массой 180-200 г. Животных содержали в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемыми для экспериментальных и иных научных целей, а также в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации». Правила утверждены приказом Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003 г №267 (Правила лабораторной практики в Российской Федерации Министерства здравоохранения РФ Приказ от 19 июня 2003 года № 267 [http:// www.kodeks.ru](http://www.kodeks.ru) (24 апреля 2010г)).

Животные были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой группе. Крысы первой группы получали раствор АГ в дозе 2,0 мг/кг массы внутривентриально в течение 7 дней, вторая группа крыс получала АГ в дозе 5,0 мг/кг массы, внутривентриально в течение 7 дней. Крысы третьей, контрольной группы получали эквивалентную инъекцию физиологического раствора (плацебо), также в течение 7 дней.

Статическая работоспособность животных оценивалась их подвешиванием на горизонтальный экран-сетку унифицированным методом. Динамическую работоспособность крыс определяли в тесте принудительного плавания с грузом [4]. При этом масса отягощения была увеличена до 8% массы тела.

После курса воздействия АГ и плацебо животных декапитировали для взятия образцов тканей. Выделение РНК и получение кДНК проводили методом обратной транскрипции. Образцы тканей для выделения РНК брали сразу после декапитирования животных. Реакцию получения кДНК из препаратов тотальной РНК, предварительно обработанной ДНКазой I (1ЕД фермента на 1 мкг РНК), осуществляли с использованием наборов ОТ-ПЦР фирмы «Силекс». Количественный анализ мтДНК проводили методом количественной РТ ПЦР. Для этого использовали препараты ДНК, выделенные из образцов ткани с использованием стандартных наборов фирмы «Силекс» в соответствии с её протоколами.

Специфическую экспрессию гена PGC-1 $\alpha$  и гена TPСазы исследовали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (РТ-ПЦР) на приборе ДНК-технологии ДТ-322 (ДНК-технологии) с применением наборов реактивов фирмы «Синтол». Для анализа использовали 10нг образца ДНК на реакцию. Относительные количества ядерной и митохондриальной (мтДНК) определяли путем сравнения кинетики размножения выбранного фрагмента гена  $\beta$ -актина, локализованного в ядерном геноме, митохондриального гена цитохрома **b** и оценки числа копий этих генов путём серии разведений образцов ДНК. Каждая реакция проводилась в трех повторах. Заправки конструировали по программе «Праймер Экспресс Версия 3.0» и сайта «Primer-BLAST».

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета программ SPSS 13.0 (SPSS Inc., США).

**Результаты исследования и их обсуждение.** В результате исследований установлено, что при введении АГ в дозе 2,0 мг/кг работоспособность животных достоверно увеличивается, а в дозе 5,0 мг/кг АГ усиливал этот эффект. (табл. 1).

**Таблица 1.** Время удержания животных на горизонтальной сетке и продолжительность их плавания до утомления ( $M \pm m$ )

Группа (n=10 в каждой)	Время удержания на сетке (из 3-х повторов), минут	Длительность плавания до утомления, минут
Плацебо – контроль	11,45±0,85	33,50±1,7
Опыт 1 (АГ – 2,0 мг/кг)	18,5±0,98* (r=0.61)	55,25±2,8* (r=0.67)
Опыт 2 (АГ – 5,0 мг/кг)	29,2±1,0* (r=0.72)	77,4±2,4* (r=0.73)

Примечания: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Корреляционный (по Пирсону) анализ работоспособности животных в тестах выявил тесную связь полученных данных (табл. 2). Число митохондрий в тканях возрастало пропорционально активации экспрессии мРНК PGC-1 $\alpha$ . Соотношение изучаемым геном - мишени PGC-1 $\alpha$  и мРНК  $\beta$ -актина представлены в таблице 3, которая свидетельствует о почти двукратном увеличении экспрессии гена PGC-1 $\alpha$  в мышечных волокнах как при введении АГ в дозе в 2,0 мг/кг массы, так и при введении препарата в дозе 5,0 мг/кг. Корреляционный анализ изменений работоспособности животных в тестах выявил сильную связь с данными изучения экспрессии (таблица 2).

**Таблица 2.** Коэффициенты корреляции (r) эффектов АГ с работоспособностью и биосинтетической активностью клеток

Показатель	Группы животных (n=10 в каждой)		
	Контроль (плацебо)	АГ в дозе 2,0 мг/кг	АГ в дозе 5,0 мг/кг
Время удержания на сетке (из 3-х повторов), минут	11,5±0,9	r=0.55	r=0.62
Продолжительность плавания до утомления, минут	32,±1,4	r=0.73	r=0.74
Относительная индукция, уровень мРНК PGC - 1 $\alpha$ /мРНК $\beta$ актина	0,9±0,1	r=0.58	r=0.64
Содержание митохондрий в миоцитах по количеству молекул мтДНК (цитохром b) /диплоидный геном (ген $\beta$ -актина)	0,9±0,1	r=0.65	r=0.76

**Таблица 3.** Соотношения между изучаемым геном - мишенью PGC-1 $\alpha$  и мРНК  $\beta$ -актина ( $M \pm m$ )

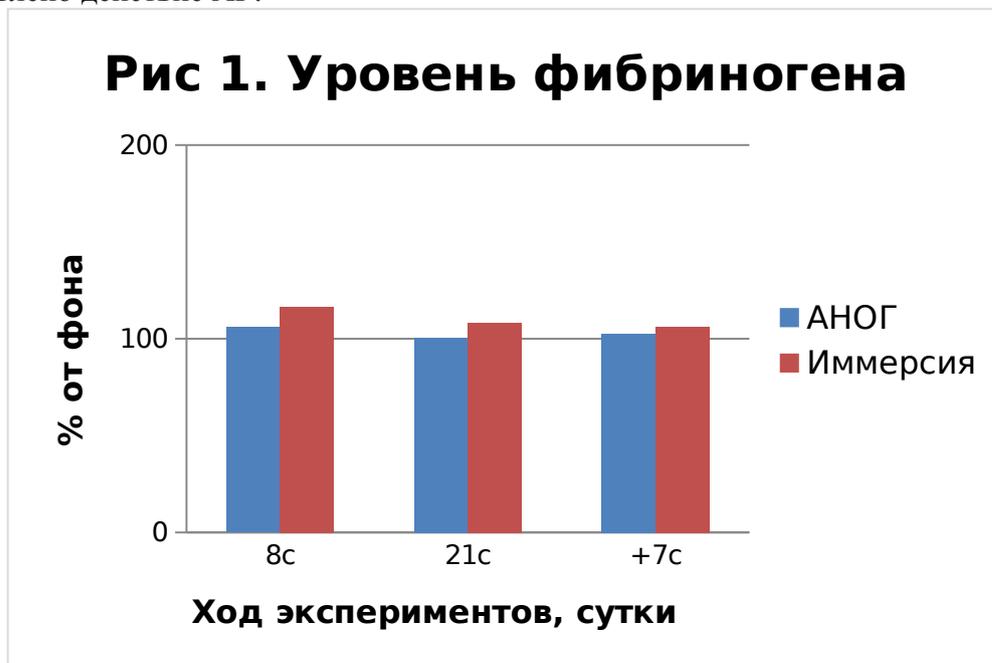
Показатель	Группы животных		
	Контроль (плацебо)	АГ в дозе 2,0 мг/кг	АГ в дозе 5,0 мг/кг
Относительная индукция, уровень мРНК PGC - 1 $\alpha$ /мРНК $\beta$ актина	1,8±0,1	3,1±0,1* (r=0.52)	3,8±0,15* (r=0.56)
Содержание митохондрий в миоцитах по количеству молекул мтДНК (цитохром b) /диплоидный геном (ген $\beta$ -актина)	0,9±0,1	1,6±0,15* (r=0.56)	2,1±0,16* (r=0.61)

Примечания: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Результаты анализа экспрессии генов PGC-1  $\alpha$  и ТРСазы в мышцах крыс отражены на рис. 1. Из рисунка 1 видно, что при введении раствора астрагерма в дозе 10 мг/кг в течение 7

дней, достигается максимальная активация экспрессии гена коактиватора PGC-1 $\alpha$  в мышечных волокнах.

Как известно, TRCазы играют важную роль в контроле ангиогенеза и принимают активное участие в маршрутах активации онкосупрессоров (например – p53), а также в контроле реакций при формировании антиинфекционных функций в условиях развития неспецифического иммунитета [12]. Результаты проведенного нами исследования указывают на высокую эффективность АГ в качестве стимулятора экспрессии PGC-1  $\alpha$ . В этом отношении он сравним с действием известных биостимуляторов [2,14, 17]. Это значит, что ген коактиватора PGC-1 $\alpha$  в мышечных волокнах является одной из «мишеней», на которые направлено действие АГ.



**Рисунок 1.** Экспрессия мРНК коактиватора в мышцах крыс в условиях плавательных нагрузок и введения астрагерма в разных дозах.

*Обозначения:*

- 1 - контроль без астрагерма;
- 2- плюс астрагерм в дозе 2,0 мг / кг веса животного;
- 3- плюс астрагерм в дозе 5,0 мг/кг на кг веса животного.

Стимулированный биогенез митохондрий сопровождается активацией ряда ключевых для кислородного энергетического обмена генов, в частности коактиватора PGC-1 $\alpha$ , митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) и сиртуинов (SIRT1). Активация биогенеза митохондрий приводит к активации антиоксидантной цепи и к оптимальному соотношению числа митохондрий и синтеза АТФ. Указанные гормезис - факторы стимулируют ангиогенез через активацию гипоксия - индуцируемый фактор 1 $\alpha$ . Одновременно активируются эпигенетические процессы метилирования ДНК и модификации гистонов [17, 18 ].

Таким образом, мы можем предложить гены TRCазы и PGC-1 $\alpha$  и их продукты в качестве перспективных мишеней терапевтического воздействия, а также биологических маркеров при подборе комплекса терапевтических средств оптимизации процессов гормезиса [16] на основе принципов развиваемой в последние годы персонализированной медицины.

*Конфликт интересов отсутствует.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воронков М.Г., Овчинникова З.А., Барышок В.П. Синтез 1-герматранола и его С-замещенных // Изв. АН СССР. - серия Химия. - 1987. - т. 4. - С. 880-882.
2. Воронков М.Г., Дьяков В.М., Расулов М.М., Тимофеев В.В., Ивунин А.Н., Стамова Л.Г. Применение адаптогена трекрезана для повышения устойчивости к экстремальным температурам // Паллиативная медицина и реабилитация. 2003. № 3. С. 18-19.
3. Лукевиц Э.Я. и др. Биологическая активность соединений германия. Рига: Зинатне, 1990, 198 с.
4. Островская Р.У., Клейменова Н.Н., Камышева В.А., Молодавкин Г.М. Яворский А.Н., Бойко С.С. // В кн.: Фармакологическая коррекция утомления (ред.: Бобков Ю.Г.), - М.: Медицина, 1982.- С. 39.
5. Расулов М.М., Стороженко П.А., Жигачева И.В. Алканкарбоновые кислоты и их производные в биологии и медицине.- Palmarium Academic Publishing, reha gmbh, 66111, Saarbrucken, 2018, 259 p.
6. Расулов М.М., Нурбеков М.К., Воронков М.Г., Бобкова С.Н., Беликова О.А., Кизликов И.Г., Соколова А.В. Средство, стимулирующее экспрессию матричной РНК триптофанил-тРНК-синтеказы. - Патент на изобретение RU 2429836 С1, 27.09.2011. Заявка № 2010112635/15 от 01.04.2010.
7. Расулов Р.М., Гукасов В.М., Мякинькова Л.Л., Снисаренко Т.А., Голованов С.А., Расулов М.М. Современные представления о возможностях применения адаптогенов // Инноватика и экспертиза, 2020, вып. 1 (29), с.77-89. DOI: 10.35264/1996-2274-2020-1-77-89.
8. Рачин А.П., Расулов Р.М., Барышок В.П., Стороженко П.А., Расулов М.М., Жигачёва И.В., Корсунская И.М., Пирузян А.Л., Лебедева О.Д., Костромина Е.Ю. Способ коррекции атерогенеза в эксперименте с помощью 1- гидроксигерматрана- Патент RU № 2 741 229 (С1) от 22 янв. 2021// Бюлл.№3.
9. Старова Г.Л., Франк – Каменецкая О.В., Фундаменский В.С., Семёнова Н.В., Воронков М.Г. Кристаллическая и молекулярная структура крезацина – трис(2-осиэтил) аммоний-2-метилфеноксиацетата // Докл. АН СССР, –1981, – 260, № 4, – с.888 – 892.
10. Стороженко П.А., Егоров М.П., Расулов М.М. Протатраны. М.: Изд-во РАН, 2023, 302с.
11. Фесюн А.Д., Расулов Р.М., Барышок В.П., Стороженко П.А., Расулов М.М., Жигачёва И.В., Корсунская И.М., Пирузян А.Л., Князева Т.А., Якупова Р.Д. Применение 1-гидроксигерматрана для торможения развития атеросклероза в эксперименте.-Патент RU № 2 742 972 (С1) от 12.фев. 2021// Бюлл.№5.
12. Dürr S., Kindler V. Implication of indolamine 2,3 dioxygenase in the tolerance toward fe-tuses, tumors, and allografts // J. Leukoc. Biol. 2013.- V. 93(5).- P. 681-687.
13. Guo M., Schimmel P., Yang X-L Functional expansion of human tRNA synthetases achieved by structural inventions // FEBS Letters. - 2010. - Vol. 584, № 2. - P. 434-442.
14. Higashida K, Kim S.H., Jung S.R., Asaka M., Holloszy J.O., Dong-Ho Han. Effects of Resveratrol and SIRT1 on PGC-1 $\alpha$  Activity and Mitochondrial Biogenesis: A Reevaluation // PLoS Biol., 2013.- V. 11(7).- P. e1001603.
15. Laupheimer M.W., Malliaris P.M., Berdejo-del-Fresno P., Maffulli, D., Hemmings, N.S. Resveratrol: A review of basic science and potencial indications in **sports** and exercise medicine. //J.of Sport and Health Research. -2013, 5(3):237-250.
16. Mao L., Franke J. Hormesis in aging and neurodegeneration-a prodigy awaiting dissection.// Int. J. Mol. Sci. 2013.- V. 14.- P. 13109-13128
17. Nurbekov M.K., Rasulov M.M., Bobkova S.N., Belikova O.A., Voronkov M.G. Tris-2(hydroxyethyl)ammonium 2-methylphenoxyacetate activates the synthesis of mRNA aminoacyl-tRNA synthetase// Doklady Biochemistry and Biophysics. 2011. T. 438. № 1. С. 131-133.

18. Radak Z., Zhongfu Zhao Z., Koltai E., Ohno H., and Atalay M. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling // *Antioxid. Redox Signal.*, 2013, 18, 1208–1246. PMID: 22978553, PMCID: PMC3579386, DOI: 10.1089/ars.2011.4498

## LITERATURE

1. Voronkov M.G., Ovchinnikova Z.A., Baryshok V.P. Synthesis of 1-germatranol and its C-substituted // *Izv. AN. THE USSR. - Chemistry series.* - 1987. - v. 4. - S. 880-882.

2. Voronkov M.G., Dyakov V.M., Rasulov M.M., Timofeev V.V., Ivunin A.N., Stamova L.G. The use of the adaptogen trekrezan to increase resistance to extreme temperatures // *Palliative Medicine and Rehabilitation.* 2003. No. 3. S. 18-19.

3. Lukevits E.Ya. and other Biological activity of germanium compounds. Riga: Zinatne, 1990, 198 p.

4. Ostrovskaya R.U., Kleimenova N.N., Kamyshva V.A., Molodavkin G.M. Yavorsky A.N., Boyko S.S. // In the book: *Pharmacological correction of fatigue* (ed.: Bobkov Yu.G.), - M.: Medicine, 1982.- P. 39.

5. Rasulov M.M., Storozhenko P.A., Zhigacheva I.V. Alkanecarboxylic acids and their derivatives in biology and medicine. - Palmarium Academic Publishing, reha gmbh, 66111, Saarbrücken, 2018, 259 rubles.

6. Rasulov M.M., Nurbekov M.K., Voronkov M.G., Bobkova S.N., Belikova O.A., Kizlikov I.G., Sokolova A.V. An agent that stimulates the expression of messenger RNA tryptophanyl-tRNA synthetase. - Patent for invention RU 2429836 C1, 27.09.2011. Application No. 2010112635/15 dated 04/01/2010.

7. Rasulov R.M., Gukasov V.M., Myakin'kova L.L., Snisarenko T.A., Golovanov S.A., Rasulov M.M. Modern ideas about the possibilities of using adaptogens // *Innovation and Expertise*, 2020, no. 1 (29), pp. 77-89. DOI: 10.35264/1996-2274-2020-1-77-89.

8. Rachin A.P., Rasulov R.M., Baryshok V.P., Storozhenko P.A., Rasulov M.M., Zhigacheva I.V., Korsunskaya I.M., Piruzyan A.L., Lebedeva O.D., Kostromina E.Yu. A method for correcting atherogenesis in the experiment using 1-hydroxygermatran - Patent RU No. 2 741 229 (C1) dated January 22. 2021// *Bull.* No. 3.

9. Starova G.L., Frank-Kamenetskaya O.V., Fundamensky V.S., Semyonova N.V., Voronkov M.G. Crystal and molecular structure of krezacin - tris(2-oxyethyl) ammonium-2-methylphenoxyacetate // *Dokl. Academy of Sciences of the USSR*, -1981, - 260, No. 4, - pp. 888 - 892.

10. Storozhenko P.A., Egorov M.P., Rasulov M.M. *Protatrans.* M.: Publishing House of the Russian Academy of Sciences, 2023, 302s.

11. Fesyun A. D., Rasulov R. M., Baryshok V. P., Storozhenko P. A., Rasulov M. M., Zhigacheva I. V., Korsunskaya I. M., Piruzyan A. L., Knyazeva T.A., Yakupova R.D. The use of 1-hydroxygermatran to inhibit the development of atherosclerosis in the experiment. Patent RU No. 2 742 972 (C1) dated February 12. 2021// *Bull.* No. 5.

12. Dürr S., Kindler V. Implication of indolamine 2,3 dioxygenase in the tolerance toward fe-tuses, tumors, and allografts // *J. Leukoc. Biol.* 2013.- V. 93(5).- P. 681-687.

13. Guo M., Schimmel P., Yang X-L Functional expansion of human tRNA synthetases achieved by structural inventions // *FEBS Letters.* - 2010. - Vol. 584, № 2. - P. 434-442.

14. Higashida K, Kim S.H., Jung S.R., Asaka M., Holloszy J.O., Dong-Ho Han. Effects of Resveratrol and SIRT1 on PGC-1 $\alpha$  Activity and Mitochondrial Biogenesis: A Reevaluation // *PLoS Biol.*, 2013.- V. 11(7).- P. e1001603.

15. Laupheimer M.W., Malliaris P.M., Berdejo-del-Fresno P., Maffulli, D., Hemmings, N.S. Resveratrol: A review of basic science and potential indications in sports and exercise medicine. //J.of Sport and Health Research. -2013, 5(3):237-250.

16. Mao L., Franke J. Hormesis in aging and neurodegeneration-a prodigy awaiting dissection.// Int. J. Mol. Sci. 2013.- V. 14.- P. 13109-13128

17. Nurbekov M.K., Rasulov M.M., Bobkova S.N., Belikova O.A., Voronkov M.G. Tris-2(hydroxyethyl)ammonium 2-methylphenoxyacetate activates the synthesis of mRNA aminoacyl-tRNA synthetase// Doklady Biochemistry and Biophysics. 2011. T. 438. № 1. С. 131-133.

18. Radak Z., Zhongfu Zhao Z., Koltai E., Ohno H., and Atalay M. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling // Antioxid. Redox Signal., 2013, 18, 1208–1246.PMID: 22978553, PMID: PMC3579386, DOI: 10.1089/ars.2011.4498

#### **СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

**Солупаева** Людмила Валентиновна – аспирант ФГБОУ ВО «Липецкий государственный педагогический университет имени П.П. Семёнова Тян-Шанского», Липецк, ул.С.-Щедрина, д.156, к.707. [e-mail: lekdelo3@yandex.ru](mailto:lekdelo3@yandex.ru)

**Solupaeva** Lyudmila Valentinovna – postgraduate student of FSBEI HE "Lipetsk State Pedagogical University named after P.P. Semyonov Tyan-Shansky, Lipetsk. S.-Shchedrin St., 156, room 707. [e-mail: lekdelo3@yandex.ru](mailto:lekdelo3@yandex.ru)

**Расулов** Максуд Мухамеджанович, доктор медицинских наук, профессор, начальник отдела, Государственный научный центр РФ АО «Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений», г. Москва, Российская Федерация, [e-mail: rasulovmaksud@gmail.com](mailto:rasulovmaksud@gmail.com)

**Rasulov** Maksud Mukhamedzhanovich, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department, State Scientific Center of the Russian Federation JSC "State Research Institute of Chemistry and Technology of Organoelement Compounds", Moscow, Russian Federation, [mail: rasulovmaksud@gmail.com](mailto:rasulovmaksud@gmail.com)