

33. Трезубов В. Н. Побочное действие протезов на краевой пародонт / В. Н. Трезубов, О. Н. Аль-Хадж // Пародонтология. – 2001. – № 1-2. – С. 19-20.
34. Трезубов В. Н. Явления образования протетического пародонтита у человека (клиническая форма пародонтитов) / В. Н. Трезубов, О. Н. Сапронова, Л. Я. Кусевский // Институт стоматологии. – 2008. – №4. – С. 48-49.
35. Файзуллаева Н. Н. Сохранение жизнеспособности поврежденной пульпы методом прямого покрытия / Н. Н. Файзуллаева, Ю. А. Винниченко // Стоматология. – 2009. – №1. – С. 74-76.
36. Accorinte L. Adverse effects of human pulps after direct pulp capping with the different components from a total-etch, three-step adhesive system / L. Accorinte, A. Loguercio, A. Reis [et al.] // Dent Mat. – 2005. – V. 21. № 7. – P. 599-607.
37. Arakawa M. Direct pulp capping with an auto-cured sealant resin and a self-etching primer / M. Arakawa, Y. Kitasako, M. Otsuki [et al.] // Am J Dent 2003. – V. 16. № 1. – P. 61-65.
38. Auschill T. M. Success rate of direct pulp capping with calcium hydroxide / T. M. Auschill, N. B. Arveller, E. Hellwig [et al.] // Schweiz Monatsschr Zahnmed. – 2003. – V. 113. № 9. – P. 946-952.
39. Cardenas-Dugue, L. M. Pulpal response to different pulp capping methods after pulp exposure by air abrasion / L. M. Cardenas-Dugue, M. Yoshida, G. Goto // J Clin Pediatr Dent. – 2002. – V. 26. № 3. – P. 269-273.
40. Costa C. A. Biocompatibility of resin-based materials used as pulp-capping agents / C. A. Costa, M. F. Oliveira, E. M. Giro // Int Endod J. – 2003. – V. 36. №12. – P. 831-839.
41. Dickens S. H. Dentin adhesion and microleakage of a resin-based calcium phosphate pulp and basing cement / S. H. Dickens, S. R. Kelly, G. M. Flaim [et al.] // Eur J Oral Sci. – 2004. – V. 112. №5. – P. 452-457.
42. Fujitani M. Direct adhesive pulp capping: pulpal healing and ultra-morphology of the resin-pulp interface / M. Fujitani, S. Shibata, B. Van Meerbeek [et al.] // Am J Dent. – 2002. – V. 15. №6. – P. 395-402.
43. Imai M. Ultrastructure of wound healing following direct pulp capping with calcium-beta-glycerophosphate (Ca-BGP) / M. Imai, Y. Hayashi // J Oral Pathol Med. – 1993. – V. 22. №9. – P. 411-417.
44. Kaiser D. A. Programmed occlusal reconstruction in anticipation of tooth wear / D. A. Kaiser, M. N. Dakin, J. D. Jones // J Prost Dent. – 1999. – V. 82. №3. – P. 356-358.
45. Kaliniotou-Koumpia E. Pulpal responses following direct pulp capping of healthy dog teeth with dentine adhesive systems / E. Kaliniotou-Koumpia, D. Tziafas // J Dent. – 2005. – V. 33. №8. – P. 639-647.
46. Kiba H. Pulpal reactions to two experimental bonding system for pulp capping procedures / H. Kuba, T. Hayakawa, K. Nakanuma [et al.] // J Oral Sei. – 2000. – V. 42. №2. – P. 69-74.
47. Medina V. O. Histopathologic study on pulp response to single-bottle and self-etching adhesive systems / V. O. Medina, K. Shinkai, M. Shiromo [et al.] // Oper Dent. – 2002. – V. 27. №4. – P. 330-342.
48. Sen, M. Octacalcium phosphate-based cement as a pulp-capping agent in rats / M. Sena, Y. Yamashita, Y. Nakano [et al.] // Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod. – 2004. – V. 97. №6. – P. 749-755.
49. Tarle M. Адгезивы к дентину, достаточная гибридикация и границы полости как условия проведения при прямом покрытии пульпы / M. Tarle, A. Meniga, Knezovic [et al.] // Эндодонтия сегодня. – 2001. – № 12. – 64с.
50. Trope M. Capping the inflamed pulp under different clinical conditions / M. Trope, R. McDougal, L. Levin [et al.] // J Esthet Restor Dent. – 2002. – №14. – P. 349-357.

Поступила 29.09.2016

А. М. МАНУЙЛОВ<sup>1</sup>, К. А. ПОПОВ<sup>2</sup>, И. Ю. ЦЫМБАЛЮК<sup>1</sup>, М. Г. ЛИТВИНОВА<sup>2</sup>,  
Ф. У. ХУБИЕВА<sup>1</sup>, А. В. ШЕСТОПАЛОВ<sup>3</sup>

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДИХЛОРАЦЕТАТА НАТРИЯ: КОНЦЕПЦИИ И МЕХАНИЗМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

<sup>1</sup> Кафедра хирургии №2 ФПК и ППС,

<sup>2</sup> кафедра фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина 4. Тел. (928)4300769. E-mail: igor\_ts@inbox.ru

<sup>3</sup> Высшая школа молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1

Биологическая активность дихлорацетата натрия изучается в медицине на протяжении последних сорока пяти лет, между тем, представленный обзор является первым в отечественной литературе и призван привлечь внимание исследователей к данной проблематике. В экспериментально-клинических исследованиях демонстрируется эффективность дихлорацетата натрия как цитопротектора при ряде патологических процессов, сопровождающихся митохондриальной дисфункцией, а также противоопухолевая активность. Механизм его действия связан с активацией пируватдегидрогеназного комплекса и, как следствие, энергетического метаболизма. В нормальных клетках, находящихся в условиях гипоксии, это приводит к оптимизации расходования кислорода, предотвращению закисления среды. В атипичных клетках при этом происходит инверсия метаболизма с интенсификацией свободнорадикальных процессов, активацией каспазного ферментного каскада, снижением активности пропролиферативных и проангиогенетических транскрипционных факторов.

**Ключевые слова:** дихлорацетат натрия, митохондриальная дисфункция, пируватдегидрогеназа, метаболическая цитопротекция.

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SODIUM DICHLOROACETATE: CONCEPTS AND MECHANISMS  
(LITERATURE REVIEW)

<sup>1</sup> Department of Surgery №2, the Faculty of Advanced Training and Occupational Retraining of Personnel (FAT and ORP).

<sup>2</sup> Department of Fundamental and clinical biochemistry of The Kuban State Medical University, Russia, 350063, Krasnodar, Sedin str., 4. Phone +7 (928)4300769. E-mail: igor\_ts@inbox.ru

<sup>3</sup> Dmitry Rogachev Federal Research Center, 117997, Moscow, str. Samory Mashela, 1

Though the biological activity of sodium dichloroacetate in medicine has been researched for the last forty-five years, our literature review is considered to be the first one in the domestic scientific literature and must draw the researchers' attention to this range of problems. During the clinic-experimental studies the effectiveness of sodium dichloroacetate as the cytoprotector in a number of pathological processes involving the mitochondrial dysfunction was researched as well as its antitumor activity. The mechanism of its effect was associated with the activation of the pyruvate dehydrogenase complex and as a result of it the energy metabolism. In normal cells in the hypoxia conditions this leads to the optimization of oxygen consumption and the prevention of sulphur acidulation. In atypical cells this causes the metabolism inversion including the intensification of free-radical processes, the activation of caspase enzyme cascade, the activity lowering of proliferative and proangiogenic transcriptional factors.

**Key words:** sodium dichloroacetate, mitochondrial dysfunction, pyruvate dehydrogenase, metabolic cytoprotection.

### Введение

Экспериментально-клинические исследования натрия дихлорацетата (НДХА) и других солей дихлоруксусной кислоты проводятся в медицине на протяжении последних сорока пяти лет [32]. НДХА – один из множества органических галогенидов, с которыми человеческая популяция контактирует постоянно. Он содержится в хлорированной питьевой воде, где его концентрация может достигать 160 мкг/л [27], в грунтовых водах, загрязненных при производстве промышленных растворителей и других хлорсодержащих веществ [20], кроме того, выступает в роли промежуточного метаболита при биотрансформации некоторых лекарственных препаратов [18].

НДХА является структурным аналогом пировиноградной кислоты, и его биологическая активность связана с активацией пируватдегидрогеназного комплекса. Одним из наиболее значимых результатов этого является снижение концентрации лактата на локальном уровне и, соответственно, в крови, что позволяет относить НДХА к метаболическим цитопротекторам.

В настоящее время активность НДХА изучается при различных заболеваниях и состояниях как в виде монотерапии, так и в сочетании с другими методами для лечения тяжелых метаболических расстройств, кардиоваскулярной патологии и в онкологии.

### Механизм взаимодействия НДХА и пируватдегидрогеназного комплекса

Пируват играет центральную роль в углеводном и энергетическом метаболизме. Его обратимое декарбоксилирование с образованием ацетил-КоА мульт-

тиферментным пируватдегидрогеназным комплексом (МПДК) и карбоксилирование с превращением в оксалоацетат пируваткарбоксилазой обеспечивает входение 3-углеродных (С3) и 2-углеродных (С2) фрагментов в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). Восстановленные эквиваленты (NADH и FADH<sub>2</sub>), образующиеся в результате окислительного декарбоксилирования и других реакций ЦТК, обеспечивают электронами митохондриальную электрон-транспортную цепь и окончательный синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата под воздействием комплекса 5 дыхательной цепи (АТФ-синтазы) [39].

В аэробных условиях активность МПДК является лимитирующей для митохондриального окисления глюкозы и пирувата и для лактата с аланином, находящихся в равновесном состоянии с пируватом, что играет определяющую роль в максимально эффективном использовании углеводов как источников энергии. Быстрая регуляция МПДК осуществляется прежде всего за счет обратимого фосфорилирования гидроксильных групп остатков серина, локализованных в  $\alpha$ -субъединице гетеротетрамерного ( $\alpha_2\beta_2$ ) первого (E<sub>1</sub>) компонента комплекса. Когда E<sub>1</sub> $\alpha$ -субъединица не фосфорилирована, пируватдегидрогеназа (ПДГ) функционирует в качестве декарбоксилазы  $\alpha$ -кетокислот с облигатным кофактором тиаминпирофосфатом и окисляет пируват. На следующей стадии катализирует восстановительное ацетилирование липоил-фрагмента дигидролипоамид-трансацетилазы (E<sub>2</sub>). У человека имеется 4 изоформы киназы ПДГ, которые фосфорилируют E<sub>1</sub> $\alpha$ -субъединицу, переводя тем самым МПДК в неактивное состояние. Ее актив-

ность ингибируется пируватом при возрастании коэффициента АДФ/АТФ и стимулируется при возрастании коэффициента NADH/NAD<sup>+</sup> или ацетил-КоА/КоА. Дефосфорилирование и активация E<sub>1</sub>α-субъединицы обеспечивается фосфатазой ПДГ, представленной у человека в виде двух изоформ, активность которых регулируется концентрацией ионов Ca<sup>2+</sup> и Mg<sup>2+</sup> [39].

НДХА является структурным аналогом пирувата. При пероральном введении он быстро всасывается в системный кровоток, его биодоступность приближается к 100% [11]. Препарат транспортируется через клеточные мембраны, включая и гематоэнцефалический барьер, с помощью монокарбоксилатной транспортной системы, для которой лактат, пируват и кетоновые тела являются естественными субстратами [3, 19]. НДХА также конкурирует за транспорт внутрь митохондрии с пируватным митохондриальным переносчиком. Стимуляция активности ПДГ обычно происходит в течение считанных минут после перорального или парентерального введения НДХА, что проявляется в дозозависимом уменьшении концентрации лактата [40]. Тщательное исследование структуры второй изоформы киназы ПДГ, которая является наиболее широко экспрессируемой в тканях, и ее взаимодействия с натуральными и синтетическими лигандами показало, что НДХА и пируват взаимодействуют с одним и тем же связывающим участком в центре N-концевого регуляторного домена [23]. НДХА в присутствии АДФ вызывает изменения в активном центре второй изоформы киназы ПДГ, что приводит к ее неконкурентному ингибированию и последующей активации МПДК. По относительной чувствительности к НДХА все изоформы киназы ПДГ можно расположить в следующей последовательности: I2≈I4>I1>>I3 [28].

### **Влияние на метаболизм в условиях гипоксии**

Прямое увеличение активности МПДК и частичное торможение окисления длинноцепочечных жирных кислот в митохондриях в результате увеличения концентрации малонил-КоА, которое сопровождается усилением окисления пирувата, оказывает цитопротективный эффект при ишемии различных органов и тканей. НДХА восстанавливает функциональную связь между гликолизом и окислительным декарбоксилированием пирувата в митохондриях, нейтрализует закисление цитоплазмы, оптимизирует расход кислорода в условиях ишемии, что имеет важное значение, поскольку окисление глюкозы в митохондриях требует на 10-12% меньше кислорода, чем окисление жирных кислот при синтезе такого же количества АТФ. При этом полностью образование лакта-

та не подавляется, что необходимо для регенерации окисленных коферментов и протекания анаэробного гликолиза. Однако содержание восстановленных коферментов существенно возрастает, что поддерживает функционирование антиоксидантной системы в условиях интенсификации образования свободных радикалов в момент реперфузии и обеспечивает быстрое восстановление энергетического метаболизма.

### **Инверсия метаболизма опухолевых клеток**

В опухолевых клетках вторая изоформа киназы ПДГ блокирует МПДК. В отличие от здоровых клеток, использующих для удовлетворения собственных энергетических потребностей аэробное дыхание, атипичные используют анаэробный гликолиз (эффект Варбурга) [45]. Этот процесс приводит к образованию большого количества лактата, который способствует разрушению межклеточного матрикса, увеличивает мобильность клеток и стимулирует неоангиогенез, что способствует дальнейшей инвазии и распространению опухоли [17]. Кроме того, используя анаэробный гликолиз для получения энергии, опухолевые клетки избегают потенциального образования активных форм кислорода (АФК) при утечке электронов в дыхательной цепи [4, 5, 22]. НДХА, блокируя киназу ПДГ, активирует МПДК, переключает клеточное дыхание с гликолиза на аэробный путь (рис. 1), что повышает активность цикла Кребса и электрон-транспортной цепи, увеличивая при этом образование проапоптотических АФК в митохондриях за счет активации каспазного ферментного каскада [4, 5, 30]. В результате снижается активность пропролиферативных и проангиогенетических транскрипционных факторов, таких как нуклеарный фактор активированных Т-лимфоцитов (NFAT) и гипоксией индуцируемый фактор 1α (HIF-1α), и повышается активность K<sub>v</sub>-каналов и экспрессия протеина p53. Эти эффекты приводят к высокоселективному снижению неоангиогенеза и опухолевого роста в различного рода бластомах [8, 43].

Кроме того, введение НДХА приводит к открытию редокс-чувствительных митохондриальных транспортных каналов [9], выходу в цитоплазму проапоптотических медиаторов, цитохрома С, апоптоз индуцирующего фактора (AIF) и запуску каскада селективных для опухолевых клеток реакций апоптоза, работающих в состоянии анаэробного гликолиза [13].

Ингибирование или подавление регуляции K<sup>+</sup>-каналов приводит к увеличению концентрации ионов K<sup>+</sup> за счет уменьшения тонического истечения ионов по его внутри- и внеклеточному градиенту (145/5 мЭкв). Поскольку калий оказывает устойчи-

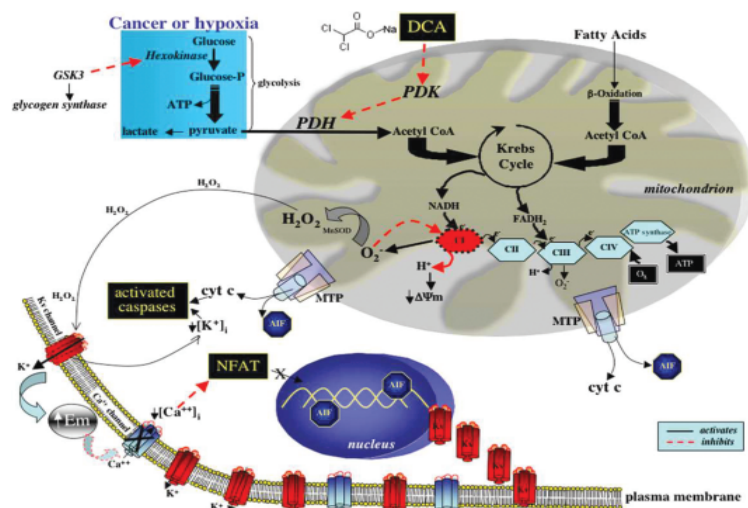


Рис. 1. Механизм инверсии метаболизма опухолевых клеток [8].

**Примечание:** DCA – натрия дихлорацетат, PDK – киназа пируватдегидрогеназы, PDH – пируватдегидрогеназа, AIF – апоптоз индуцирующий фактор, NFAT – нуклеарный фактор активированных Т-лимфоцитов, MTP – митохондриальная пора,  $\Delta\Psi_m$  – градиент мембранного потенциала митохондрии.

вое ингибирующее влияние на систему каспаз, ингибирование  $K^+$ -каналов или подавление их регуляции приводит к подавлению апоптоза в некоторых типах клеток, в том числе и опухолевых. НДХА же селективно нивелирует ингибирующие влияния на работу  $K^+$ -каналов исключительно в клетках опухоли. Выход ионов  $K^+$  из клетки в результате этого приводит к снижению его внутриклеточной концентрации, усиливая при этом проапоптотические эффекты НДХА [8].

Гибернация митохондриального метаболизма в опухолевых клетках способствует повышению концентрации внутриклеточного кальция, в результате чего увеличивается содержание пролиферативных транскрипционных факторов [16]. Известно, что активация NFAT и орнитиндекарбоксилазы, лимитирующего фермента в синтезе ДНК, происходит при высокой концентрации внутриклеточного кальция [16, 26, 46]. НДХА же снижает содержание внутриклеточного кальция, ингибируя пролиферацию и потенцируя апоптоз опухолевых клеток [16, 46].

### Фармакокинетика НДХА

Благодаря низкой молекулярной массе в 150Да НДХА имеет биодоступность, достигающую 100% при пероральном или внутривенном введении [26]. Легко всасывается в желудочно-кишечном тракте, менее 1% от введенной дозы выводится с мочой [12, 36, 37]. Метаболизм НДХА протекает, в основном, в печени по однокамерной модели [26, 33, 36, 37], где в цитоплазматической реакции ферменты изоформы  $\zeta$ -1 глутатионтрансферазы (ГТ $\zeta$ 1) в присутствии глутатиона, не расходуя его, обеспечивают дехлорирование с превращением в глиоксилат

[3]. ГТ $\zeta$ 1 является бифункциональным ферментом: выступая в качестве малеилацетоацетатаизомеразы (МААИ), он катализирует предпоследний шаг в тирозиновом катаболизме, превращая малеилацетоацетат и малеилацетон в фумарилацетоацетат и фумарилацетон соответственно [3]. Малая часть НДХА (менее 1% от введенной дозы) метаболизируется по пути восстановительного дегалогенирования с превращением в монохлорацетат [31], обладающий потенциальной нейротоксичностью [36]. При повторных введениях НДХА вызывает обратимый посттранскрипционный «нокадаун» экспрессии ГТ $\zeta$ 1/МААИ в печени и его каталитической активности [10], тем самым подавляя собственный метаболизм, что приводит к уменьшению его клиренса, значительно увеличивая при этом токсическое воздействие на организм [25, 40]. Период полураспада составляет менее одного часа, однако увеличивается до нескольких часов в результате последующих введений. В дальнейшем наступает плато этого эффекта, и концентрация НДХА в сыворотке крови перестает возрастать при длительном применении [26].

### Токсикогенетика НДХА

У человека ген, кодирующий ГТ $\zeta$ 1/МААИ, имеет три варианта несинонимичного однонуклеотидного полиморфизма (НОП): G94>A (rs 3177427) Glu  $\rightarrow$  Lys в позиции 32; G124>A (rs 7972) Gly  $\rightarrow$  Arg в позиции 42 и C245>T (rs1046428) Thr  $\rightarrow$  Met в позиции 82 соответственно. Это определяет различную активность в отношении галогенидов-ксенобиотиков [6, 7, 44]. Они могут отличаться по некоторым параметрам фармакокинетики НДХА, таким образом



влияя на его биотрансформацию и токсичность. Полиморфизм гена ГТ $\zeta$ 1/МААИ может встречаться среди расово или этнически отличных групп.

Были определены аллели и частоты гаплотипов трех вариантов НОП ГТ $\zeta$ 1/МААИ в 438 образцах генома жителей Кавказа, афроамериканцев, латиноамериканцев и азиатов, которые получены из Центра Фармакогеномики или банка ДНК Главного Клинического Исследовательского Центра Университета Флориды и из Кориэлльского банка клеток (Кориэлльский Институт Медицинских Исследований, Нью-Джерси). Среди существующих 8 гаплотипов самыми распространенными оказались 4 варианта. В изученных популяциях самыми часто встречающимися оказались EGT и EGM гаплотипы (0,50-0,56), далее – гаплотип KGT (0,17-0,38), редко встречающийся гаплотип – KRT (0-0,05) [10].

Для определения возможных кинетических отличий в биотрансформации НДХА в глиоксилат были выделены и очищены четыре варианта протеина ГТ $\zeta$ 1/МААИ, которые соответствуют нижеперечисленным гаплотипам: 1) KGT (Z1B), 2) EGM (Z1D), 3) EGT (Z1C) и 4) KRT (Z1A). Далее были проанализированы кинетические параметры ( $K_m$  и  $V_{max}$ ) очищенных протеинов, соответствующих этим гаплотипам, для НДХА и глутатиона методами количественного анализа и спектрофлуорометрической детекции [6, 7] (табл. 1). Значения  $K_m$  и  $V_{max}$  для НДХА были почти в 10 раз выше у протеина редко встречающегося гаплотипа KRT, чем у протеинов других гаплотипов. Поскольку KRT-гаплотип отличается НОП Gly42Arg, данные свидетельствуют, что этот вариант является ведущим в наблюдаемых функциональных различиях. Соответственно, у малого процента людей, обладающих KRT-гаплотипом, могут иметься существенно различные скорости биотрансформации НДХА и, как следствие, изменения в параметрах его токсикологии.

Примечательно, что значения  $K_m$  и  $V_{max}$  для KRT-гаплотипа увеличены пропорционально. Таким образом, можно предположить, что биологическое следствие снижения аффинности субстрата для фермента нивелируется за счет увеличения максимальной ско-

рости реакции. Можно предположить, что в этом случае изменение  $K_m$  может оказаться более значимым, чем  $V_{max}$ , потому как аффинность фермента к субстрату является обязательным условием осуществления энзим-опосредованного катализа. Тогда наличие KRT-гаплотипа может привести, во-первых, к снижению скорости биотрансформации НДХА и образования глиоксилата, во-вторых, к снижению в плазме уровня  $C_L$  и повышению  $t_{1/2}$  НДХА, а в-третьих, к аккумуляции в тканях и плазме монохлорацетата, малеилацетата и малеилацетона, следовательно к повышению токсичности НДХА при длительном его приеме.

### Токсикология НДХА

Известно, что для некоторых тканей и органов грызунов НДХА оказался токсичным [36], для человека же особое значение имеет его воздействие на печень и нервную систему. Данные открытых [31, 34, 35] и рандомизированных, плацебо-контролируемых исследований [1, 14, 21, 35, 38, 42] указывают, что при длительном внутривенном введении или пероральном приеме НДХА у детей и взрослых наблюдалось умеренное, не превышающее в 2 раза верхнюю границу нормы, и легко обратимое повышение уровня печеночных трансаминаз у небольшого количества пациентов, что и явилось единственным проявлением его гепатотоксичности. В то же время показано, что прием НДХА в дозах, аналогичных применяемым в клинических исследованиях, может приводить к развитию гепатита, гиперплазии и карциномы печени [31]. И у крыс [2], и у людей [38] длительный пероральный прием НДХА приводил к повышению накопления в моче малеилацетона, превышая норму в несколько раз. Однако неизвестно, обладает ли это вещество потенциальной гепатотоксичностью.

Воздействие НДХА на центральную нервную систему (ЦНС) сводилось к преходящей сонливости, седативному эффекту у небольшого количества пациентов. НДХА, по-видимому, оказывает менее выраженное седативное действие, чем обыкновенные депрессанты ЦНС (на основании результатов тестов, используемых для оценки препаратов из

Таблица 1

Кинетические параметры гаплотипов ГТ $\zeta$ 1/МААИ [39]

Гаплотип	НДХА		Глутатион	
	$K_m$ (мкмоль)	$V_{max}$ (пмоль/мин/мг)	$K_m$ (мкмоль)	$V_{max}$ (пмоль/мин/мг)
KGT (Z1B)	28±2	46±1	14±1	49±2
EGM (Z1D)	27±3	52±1	12±1	47±1
EGT (Z1C)	37±6	53±3	12±1	56±2
KRT (Z1A)	370±15	500±17	184±13	538±20

## Кинетика НДХА в плазме человека [39]

Параметры	Группы пациентов			
	Первое введение		Спустя 6 месяцев терапии	
	Дети	Взрослые	Дети	Взрослые
Число пациентов	5	4	5	4
Возраст (лет)	5,2±1,8	24±10	5,7±1,8	24,5±10
t <sub>1/2</sub> (часов)	2,5±0,4	2,1±1,5	6,4±3,4	21±5,8
Смах (мг/мл)	23±9,1	25±6,6	35±10	53±18
AUC <sub>0-∞</sub> (мг/мл·часов)	83±33	70±18	340±130	1500±700
Клиренс (мл/час)	150±60	180±46	37±14	8,3±4,6

ряда малых транквилизаторов, бензодиазепинов и барбитуратов) [11], но может обладать некоторыми свойствами анксиолитиков. Однако самым проблематичным неблагоприятным эффектом НДХА на нервную систему является развитие транзиторной периферической нейропатии (ПН), наблюдавшейся в исследованиях у собак, крыс и человека [36], что в настоящее время ограничивает возможность его длительного приема. Серия экспериментальных и клинических исследований помогла лучше понять механизм нейротоксичности НДХА.

НДХА вызывает зависимое от дозы и экспозиции обратимое ингибирование экспрессии протеинов миелина после его введения в миелинизированные ко-культуры Шванновских клеток новорожденных крыс и нейронов ганглиев дорзальных корешков [15]. НДХА снижает экспрессию основного белка миелина, белка ноль, миелин-ассоциированного гликопротеина и периферического белка миелина 22. НДХА не изменяет существующие уровни белков промежуточных филаментов, но способствует образованию антинейрофиламентных антител, которые присутствуют при некоторых наследственных нейропатиях [29] и приводят к нарушению аксонального транспорта. НДХА оказывает умеренное влияние на жизнеспособность нейронов и клеток глии, что определяется по высвобождению лактатдегидрогеназы.

Два рандомизированных, двойных слепых, плацебо-контролируемых исследования анализировали длительный пероральный прием НДХА у пациентов с генетическими митохондриальными заболеваниями, которые на протяжении 6 месяцев каждые 12 часов перорально получали НДХА в дозировке 12,5 мг/кг [21, 38]. Последовательная количественная оценка скорости и амплитуды проводимости в периферических нервах верхних и нижних конечностей проводилась у участников обоих исследований. В первом исследовании, проводившемся в Университете Флориды, участвовали пациенты с врожденным лактоацидозом, средний возраст которых составил 5,6±5 лет. При этом не было выявлено никаких раз-

личий функции периферических нервов по клинической и количественной оценке между 21 ребенком, получавшим плацебо, и 22 пациентами, получавшими НДХА на протяжении 6 месяцев [38]. В этом исследовании набиралась клинически и генетически гетерогенная группа пациентов, имеющих либо дефекты в МПДК или одном или более компонентах дыхательной цепи, либо патологические точечные мутации в митохондриальной ДНК. В последнюю группу вошли 6 пациентов с синдромом MELAS (митохондриальная энцефаломиопатия, лактатацидоз и инсультоподобные эпизоды). Во втором клиническом контролируемом исследовании, проведенном в Университете Колумбии, приняли участие 30 подростков и взрослых (средний возраст 30±14 лет) с точечной мутацией A4332G, приводящей к развитию синдрома MELAS. Ввиду ухудшения симптоматики или первичного развития ПН в течение недель или нескольких месяцев приема НДХА у значительной части пациентов, исследование было прекращено досрочно [21].

ПН распространена среди лиц с генетическими митохондриальными заболеваниями. У большинства испытуемых во Флориде и Колумбии имелись ее симптомы до начала приема НДХА. Поэтому не представляется возможным дифференцировать истинную причину развития функциональных нарушений в периферических нервах. Однако значительное отличие в восприимчивости к токсичности НДХА между детской и взрослой группами маловероятно связано с генотипом заболевания, поскольку дети с врожденным лактоацидозом (с синдромом MELAS) переносили НДХА так же, как и другие испытуемые из Флориды.

Таким образом, можно предположить, что возраст пациента может быть важным фактором, определяющим нейротоксичность НДХА. Для подтверждения этого постулата были проведены предварительные эксперименты в разных возрастных группах крыс, получавших с питьевой водой НДХА [41]. В результате у животных развивалась сенсомоторная ПН задних конечностей, выраженность симптомов которой зависела от введенной дозы и возраста. Результаты параллельно проведенных морфометрических

исследований указывают на аксональную атрофию и изменения в липидном спектре спинного мозга и седалищного нерва как причину ПН [24].

Очевидная возраст-зависимая вариабельность по переносимости НДХА при длительном его применении может отражать различия в кинетике и/или биотрансформации. В работе [31] определялась кинетика НДХА в плазме 5 детей и 4 взрослых пациентов – участников исследований во Флориде и Колумбии (табл. 2). Они принимали его в дозе 12,5 мг/кг 2 раза в день на протяжении 6 месяцев.

Никаких существенных различий в фармакокинетике между возрастными группами после приема начальной дозы НДХА выявлено не было. Однако заметные отличия в кинетике НДХА в плазме наблюдались при непрерывном приеме НДХА в дозировке 25 мг/кг. При этом клиренс НДХА явно замедленный во взрослой группе в сравнении с детьми после 6 месяцев терапии ( $8,3 \pm 4,6$  мл/час против  $37 \pm 14$  мл/час соответственно). Действительно, сравнение значений в момент времени 0 четко демонстрирует, что остаточная концентрация НДХА от предыдущего его введения у взрослых пациентов не выводится в течение 12-часового интервала между приемами. После сопоставления полученных данных по обеим группам пациентов удалось выяснить, что никаких корреляций между возрастом и параметрами фармакокинетики, измеренными после первоначального введения НДХА, не существует. Однако после 6-и месяцев терапии корреляция между этими же признаками прослеживалась от умеренной до сильной.

Аналогичная возраст-зависимая связь с параметрами фармакокинетики НДХА установлена и в экспериментах на крысах в возрастном в интервале от 5 недель до 15 месяцев [31]. У этих животных зависимое от возраста снижение клиренса сопровождалось повышением концентраций в моче НДХА, оксалата; в моче и плазме крови – малеилацетона и монохлорацетата.

Суммируя вышесказанное, можно сделать вывод, что имеется выраженная корреляция между возрастом пациента и, во-первых, замедлением плазменного клиренса НДХА, во-вторых, накоплением потенциально токсичных катаболитов тирозина (малеилацетон) и НДХА (монохлорацетат), а в-третьих, повышением риска развития токсического поражения периферических нервов.

Таким образом, исходя из сведений о структуре, свойствах и основных точках приложения в механизме действия НДХА, можно предположить, что дальнейшие экспериментально-клинические исследования данного вещества при нарушениях энергетического обмена, в том числе в опухолевых

клетках, могут быть перспективными. Вызывает интерес изучение новых эффективных комбинаций НДХА с веществами иной направленности действия на метаболизм митохондрий с целью снижения его токсичности при длительном применении.

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (от 28.01.2015 г. ч. 1, раздел 1) «Осуществление прикладных научных исследований, в том числе проведение доклинических исследований лекарственных средств и клинических исследований лекарственных препаратов».

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Agbenyega T., Planche T., Addo G. Bedo, Ansong D., Ofori A. Owusu, Bhattaram V. A., Nagaraja N. V., Shroads A. L., Henderson G. N., Hutson A. D., Derendorf H., Krishna S., Stacpoole P. W. Population kinetics, efficacy, and safety of dichloroacetate for lactic acidosis due to severe malaria in children // *The Journal of Clinical Pharmacology*. – 2003. – Vol. 43. №4. – P. 386-396.
2. Ammini C. V., Canon J. Fernandez, Shroads A. L., Cornett R., Cheung J., James M. O., Henderson G. N., Grompe M., Stacpoole P. W. Pharmacologic or genetic ablation of maleylacetoacetate isomerase increases levels of toxic tyrosine catabolites in rodents // *Biochemical Pharmacology*. – 2003. – Vol. 66. №10. – P. 2029-2038.
3. Ammini C. V., Stacpoole P. W. Biotransformation, Toxicology and Pharmacogenomics of Dichloroacetate // *The Handbook of Environmental Chemistry*. – 2003. – Vol. 3. – Part P. – P. 215-234.
4. Ayyanathan K., Kesaraju S., Dawson-Scully K., Weissbach H. Combination of sulindac and dichloroacetate kills cancer cells via oxidative damage // *PloS one*. – 2012. – Vol. 7. №7. – e39949.
5. Babu E., Ramachandran S., CoothanKandaswamy V., Elangovan S., Prasad P. D., Ganapathy V., et al. Role of SLC5A8, a plasma membrane transporter and a tumor suppressor, in the antitumor activity of dichloroacetate // *Oncogene*. – 2011. – Vol. 30. № 38. – P. 4026-4037.
6. Blackburn A. C., Coggan M., Tzeng H. F., Lantum H., Polekhina G., Parker M. W., Anders M. W., Board P. G. GSTZ1d: a new allele of glutathione transferase zeta and maleylacetoacetate isomerase // *Pharmacogenetics*. – 2001. – Vol. 11. №8. – P. 671-678.
7. Blackburn A. C., Tzeng H. F., Anders M. W., Board P. G. Discovery of a functional polymorphism in human glutathione transferase zeta by expressed sequence tag database analysis // *Pharmacogenetics*. – 2000. – Vol. 10. №1. – P. 49-57.
8. Bonnet S., Archer S. L., Allalunis-Turner J., Haromy A., Beaulieu C., Thompson R., et al. A mitochondria-K<sup>+</sup> channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth // *Cancer cell*. – 2007. – Vol. 11. №1. – P. 37-51.
9. Cao W., Yacoub S., Shiverick K. T., Namiki K., Sakai Y., Porvasnik S., et al. Dichloroacetate (DCA) sensitizes both wild-type and over expressing Bcl-2 prostate cancer cells in vitro to radiation // *The Prostate*. – 2008. – Vol. 68. №11. – P. 1223-1231.
10. Cornett R., James M. O., Henderson G. N., Cheung J., Shroads A. L., Stacpoole P. W. Inhibition of glutathione S-transferase zeta and tyrosine metabolism by dichloroacetate: a potential unifying mechanism for its altered biotransformation and toxicity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 262. – P. 752-756.
11. Curry S. H., Lorenz A., Chu P. I., Limacher M., Stacpoole P. W. Disposition and pharmacodynamics of dichloroacetate (DCA) and oxalate following oral DCA doses // *Biofarm. Drug Disp.* – 1991. – Vol. 12. – P. 375-390.
12. Curry S. H., Lorenz A., Henderson G. N., Mars D. R., Stacpoole P. W. Haemodialysis studies with dichloroacetate // *European journal*



of clinical pharmacology. – 1991. – Vol. 40. №6. – P. 613-617.

13. *Dhar S., Lippard S. J.* Mitaplatin, a potent fusion of cisplatin and the orphan drug dichloroacetate // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2009. – Vol. 106. №52. – P. 22199-22204.

14. *Duncan G. E., Perkins L. A., Theriaque D. W., Neiberger R. E., Stacpoole P. W.* Dichloroacetate therapy attenuates the blood lactate response to submaximal exercise in patients with defects in mitochondrial energy metabolism // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2004. – Vol. 89. №4. – P. 1733-1738.

15. *Felitsyn N., Stacpoole P. W., Notterpek L.* Dichloroacetate causes reversible demyelination in vitro: Potential mechanism for its neuropathic effect // Journal of Neurochemistry. – 2007. – Vol. 100. №2. – P. 429-436.

16. *Flavin D. F.* Non-Hodgkin's Lymphoma Reversal with Dichloroacetate // Journal of oncology. – 2010. – Vol. 2010. – Article ID 414726.

17. *Gatenby R. A., Gillies R. J.* Why do cancers have high aerobic glycolysis // Nature reviews Cancer. – 2004. – Vol. 4. №11 – P. 891-899.

18. *Henderson G. N., Yan Z., James M. O., Davydova N., Stacpoole P. W.* Kinetics and metabolism of chloral hydrate in children: identification of dichloroacetate as a metabolite // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1997. – №235. – P. 695-698.

19. *Jackson V. N., Halestrap A. P.* The kinetics, substrate, and inhibitor specificity of the monocarboxylate (lactate) transporter of rat liver cells determined using the fluorescent intracellular pH indicator, 2',7'-bis(carboxyethyl)-5(6)-carboxyfluorescein // J. Biol. Chem. – 1996. – №271. – P. 861-868.

20. *Jolley R. L.* Basic issues in water chlorination: a chemical perspective // Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects. – 1985. – Vol. 5. – P. 19-38.

21. *Kaufmann P., Engelstad K., Wei Y., Jhung S., Sano M. C., Shungu D. C., Millar W. S., Hong X., Gooch C. L., Mao X., Pascual J. M., Hirano M., Stacpoole P. W., DiMauro S., DeVivo D. C.* Dichloroacetate as a treatment for MELAS: A randomized, controlled clinical trial // Neurology. – 2006. – Vol. 66. №3. – P. 324-330.

22. *Kluza J., Corazao-Rozas P., Touil Y., Jendoubi M., Maire C., Guerreschi P., et al.* Inactivation of the HIF-1 $\alpha$ /PDK3 signaling axis drives melanoma toward mitochondrial oxidative metabolism and potentiates the therapeutic activity of pro-oxidants // Cancer research. – 2012. – Vol. 72. №19. – P. 5035-5047.

23. *Knoechel T. R., Tucker A. D., Robinson C. M., Phillips C., Taylor W., Bungay P. J., Kasten S. A., Roche T. E., Brown D. G.* Regulatory roles of the N-terminal domain based on crystal structures of human pyruvate dehydrogenase kinase 2 containing physiological and synthetic ligands // Biochemistry. – 2006. – Vol. 45. – P. 402-415.

24. *Landgraf R. R., Garrett T. J., Calcutt N. A., Stacpoole P. W., Yost R. A.* MALDI-linear ion trap microprobe MS/MS studies of the effects of dichloroacetate on lipid content of nerve tissue // Analytical Chemistry. – 2007. – Vol. 79. №21. – P. 8170-8175.

25. *Li T., Schultz I., Keys D. A., Campbell J. L., Fisher J. W.* Quantitative evaluation of dichloroacetic acid kinetics in human – a physiologically based pharmacokinetic modeling investigation // Toxicology. – 2008. – Vol. 245. №1-2. – P. 35-48.

26. *Michelakis E. D., Webster L., Mackey J. R.* Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer // British journal of cancer. 2008. – Vol. 99. №7. – P. 989-994.

27. *Miller J. W., Uden P. C.* Characterization of nonvolatile aqueous chlorination products of humic substances // Environ. Sci. Technol. – 1983. – №17. – P.150-157.

28. *Roche T. E., Hiromasa Y.* Pyruvate dehydrogenase kinase regulatory mechanisms and inhibition in treating diabetes, heart ischemia, and cancer // Cell. Mol. Life Sci. – 2007. – Vol. 64. – P. 830-849.

29. *Sasaki T., Gotow T., Shiozaki M., Sakaue F., Saito T., Julien J. P., Uchiyama Y., Hisanaga S.* Aggregate formation and phosphorylation

of neurofilament-L Pro22 Charcot-Marie-Tooth disease mutants // Human Molecular Genetics. – 2006. – Vol. 15. №6. – P. 943-952.

30. *Semenza G. L.* HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism // Current opinion in genetics & development. – 2010. – Vol. 20. – №1. – P. 51-56.

31. *Shroads A. L., Guo X., Dixit V., Liu H. P., James M. O., Stacpoole P. W.* Age-Dependent Kinetics and Metabolism of Dichloroacetate: Possible Relevance to Toxicity // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2008. – Vol. 34. №3. – P. 1163-1171.

32. *Stacpoole P. W.* Review of the pharmacologic and therapeutic effects of diisopropylammonium dichloroacetate (DIPA) // J. Clin. Pharmacol. J. New Drugs. – 1969. – Vol. 9. – P. 282-291.

33. *Stacpoole P. W.* The pharmacology of dichloroacetate // Metabolism: clinical and experimental. – 1989. – Vol. 38. №11. – P. 1124-1144.

34. *Stacpoole P. W., Barnes C. L., Hurbani M. D., Cannon S. L., Kerr D. S.* Treatment of congenital lactic acidosis with dichloroacetate // Archives of Disease in Childhood. – 1997. – Vol. 77. – P. 535-541.

35. *Stacpoole P. W., Gilbert L. R., Neiberger R. E., Carney P. R., Valenstein E., Theriaque D. W., Shuster J. J.* Evaluation of long-term treatment of children with congenital lactic acidosis with dichloroacetate // Pediatrics. – 2008. – Vol. 121. №5. – P. 1223-1228.

36. *Stacpoole P. W., Henderson G. N., Yan Z., Cornett R., James M. O.* Pharmacokinetics, metabolism and toxicology of dichloroacetate // Drug metabolism reviews. – 1998. – Vol. 30. №3. – P. 499-539.

37. *Stacpoole P. W., Henderson G. N., Yan Z., James M. O.* Clinical pharmacology and toxicology of dichloroacetate // Environmental health perspectives. – 1998. – Vol. 106. – Suppl. 4. – P. 989-994.

38. *Stacpoole P. W., Kerr D. S., Barnes C., Bunch S. T., Carney P. R., Fennell E. M., Felitsyn N. M., Gilmore R. L., Greer M., Henderson G. N., Hutson A. D., Neiberger R. E., O'Brien R. G., Perkins L. E., Quisling R. G., Shroads A. L., Shuster J. J., Silverstein J. H., Theriaque D. W., Valenstein E.* A controlled clinical trial of dichloroacetate for treatment of congenital lactic acidosis in children // Pediatrics. – 2006. – Vol. 117. – P. 1519-1531.

39. *Stacpoole P. W., Kurtz T. L., Han Z., Langae T.* Role of Dichloroacetate in the Treatment of Genetic Mitochondrial Diseases // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2008. – Vol. 60. №0. – P. 1478-1487.

40. *Stacpoole P. W., Nagaraja N. V., Hutson A. D.* Efficacy of dichloroacetate as a lactate-lowering drug // Journal of clinical pharmacology. – 2003. – Vol. 43. №7. – P. 683-691.

41. *Stacpoole P. W., Shroads A. L., Felitsyn N. M., Notterpek L., Calcutt N. A.* Mechanism of age dependence of dichloroacetate-induced peripheral neuropathy // Mitochondrion. – 2006. – Vol. 6. № 5. – P. 263-288.

42. *Stacpoole P. W., Wright E. C., Baumgartner T. G., Bersin R. M., Buchalter S., Curry S. H., Duncan C. A., Harman E. M., Henderson G. N., Jenkinson S., Lachin J. M., Lorenz A., Schneider S. H., Siegel J. H., Summer W. R., Thompson D., Wolfe C., Zorovich B.* A controlled clinical trial of dichloroacetate treatment of lactic acidosis in adults // The New England Journal of Medicine. – 1992. – Vol. 327. №22. – P. 1564-1569.

43. *Sutendra G., Michelakis E. D.* Pyruvate dehydrogenase kinase as a novel therapeutic target in oncology // Frontiers in oncology. – 2013. – Vol. 3. – Article 38.

44. *Tzeng H. F., Blackburn A. C., Board P. G., Anders M. W.* Polymorphism- and species-dependent inactivation of glutathione transferase zeta by dichloroacetate // Chemical Research Toxicology. – 2000. – Vol. 139. №4. – P. 231-236.

45. *Warburg O.* On the origin of cancer cells // Science. – 1956. – Vol. 123. – P. 309-314.

46. *Wong J. Y., Huggins G. S., Debidda M., Munshi N. C., De Vivo I.* Dichloroacetate induces apoptosis in endometrial cancer cells // Gynecologic oncology. – 2008. – Vol. 109. №3. – P. 394-402.

Поступила 30.09.2016