
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**БИОСОВМЕСТИМОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ НИКОТИНАМИД РИБОЗИДА
ПРИ ВНУТРИВЕННОМ СПОСОБЕ ВВЕДЕНИЯ**

© 2025 г. Е. Ю. Подъячева^{1,*}, Н. Ю. Семенова¹, Д. В. Мухаметдинова¹,
И. А. Зелинская¹, Л. А. Мурашова¹, А. В. Онопченко¹, Е. В. Щелина¹,
М. О. Мартынов¹, В. А. Дячук¹, В. А. Цинзерлинг¹, Я. Г. Торопова¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: ekaterinapodyachevaspb@gmail.com

Поступила в редакцию 29.11.2024 г.

После доработки 04.02.2025 г.

Принята к публикации 10.02.2025 г.

Никотинамид рибозид (НР) является предшественником НАД⁺. В литературе представлено большое количество работ с использованием перорального способа введения НР, которые демонстрируют положительное влияние на течение таких заболеваний, как сердечно-сосудистые, нейродегенеративные, заболевания почек, печени и др. Ранее авторами была сформулирована гипотеза о наличии протективного эффекта внутривенного введения НР в отношении доксорубин-индуцированного повреждения миокарда. Однако при данном способе введения отдельную значимость представляет информация о биосовместимости НР при его использовании в терапевтически эффективных дозах. В связи с этим целью работы явилось исследование биосовместимости различных доз НР при его многократном внутривенном введении крысам стока Wistar. В работе для введения использовались дозы 150, 300, 450 и 600 мг/кг НР (кумулятивные дозы составили 900, 1800, 2700, 3600 мг/кг соответственно). В ходе работы была продемонстрирована биосовместимость НР в дозах 150, 300, 450 мг/кг при его многократном внутривенном введении крысам. Доза 450 мг/кг при многократном внутривенном введении не сопровождалась негативным влиянием на парасимпатические ганглии автономной нервной системы сердца. В то же время использование дозы НР 600 мг/кг вызывало ряд негативных побочных эффектов в виде снижения работы сердечно-сосудистой системы, морфологических и функциональных изменений в миокарде, печени и почках, также наблюдалась частичная гибель животных, снижение толерантности к физическим нагрузкам.

Ключевые слова: никотинамид рибозид, внутривенное введение, дозозависимость, морфология, сердечные ганглии автономной нервной системы, биосовместимость

DOI: 10.31857/S0869813925050041, **EDN:** TNUBMG

ВВЕДЕНИЕ

Никотинамид рибозид (НР, NR) известен как предшественник НАД⁺, также он является пиридин-нуклеозидом и одной из форм витамина В. В 2004 г. был идентифицирован новый путь синтеза НАД⁺ посредством НР и НР-киназа (“путь спасения”/“Salvage pathway”) [1],

который пропускает этап, опосредованный ограничивающим скорость ферментом никотинамидфосфорибозилтрансферазой (NAMPT) [2–4].

На сегодняшний день в литературе представлено большое количество работ с использованием перорального способа введения НР, в которых показано положительное воздействие на течение таких заболеваний, как кардиомиопатии различного генеза, болезнь Альцгеймера, диабет, ожирение, митохондриальная миопатия и др. [5]. Кроме того, было показано, что НР не обладает побочными эффектами у людей при пероральном приеме в дозах 100, 300, 1000 мг [6]. Основные протективные эффекты НР связывают с увеличением уровней НАД⁺ в клетке, что в свою очередь потенцирует экспрессию как ядерных, так и митохондриальных сиртуинов (SIRT1-7), которые способны снижать выраженность оксидативного стресса, воспаления, стимулировать аутофагию/митофагию, улучшать метаболизм митохондрий и их биогенез [7, 8], что в итоге способствует выживанию клеток в неблагоприятных условиях [9].

Однако при пероральном способе введения биодоступность НР зависит от активности микробиоты кишечника [10, 11]. В работе, направленной на изучение метаболизма НР у мышей, было выявлено, что пероральный прием НР увеличивает уровни НАД⁺ по двум различным механизмам. На ранней стадии, при однократном применении НР напрямую всасывается из тонкого кишечника и способствует образованию НАД⁺ через “путь спасения”. На поздней стадии, при длительном применении НР гидролизуется антигеном 1 стромальных клеток костного мозга (BST1) до никотинамида (NAM) и далее метаболизируется с участием микробиоты кишечника с образованием никотиновой кислоты (NA), способствуя образованию НАД⁺ в печени [10]. Данные сведения позволяют сделать вывод о том, что биологический эффект НР при его пероральном способе использования будет эквивалентен эффекту введения NAM или NA [2, 12].

В рамках концепции применения НР в качестве протективного агента для снижения токсических эффектов антрациклиновых антибиотиков внутривенный способ введения представляет собой перспективный подход с позиции повышения его биодоступности. Однако при данном способе введения не изучены возможные побочные эффекты НР.

Ранее авторами была сформулирована гипотеза о наличии протективного эффекта внутривенного введения НР в отношении доксорубицин-индуцированного повреждения миокарда. В рамках подтверждения данной гипотезы авторами был проведен ряд экспериментов, посвященных оценке эффективности различных доз НР при его многократном введении крысам [13, 14]. Однако при данном способе введения отдельный интерес представляет информация о его биосовместимости при использовании НР в терапевтически эффективных дозах.

Целью работы явилось исследование биосовместимости различных доз НР при его многократном внутривенном введении крысам стока Wistar.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фармакологические агенты и дозы

В ходе исследования использовался никотинамид рибозид (производство Videpharm, Китай). Подготовка фармакологического агента для введения животным осуществлялась непосредственно перед использованием (*ex tempore*). Дозы НР для многократного введения были определены авторами эмпирическим путем в ранних экспериментах с учетом данных литературы и составили 150, 300, 450, 600 мг/кг (кумулятивные дозы составили 900, 1800, 2700, 3600 мг/кг соответственно) [15–17]. Дозирование фармакологического агента осуществлялось для каждого животного исходя из его массы тела. Рассчитанную на животное дозу доводили стерильным 0.9%-ным раствором NaCl до объема 0.7 мл для однократного внутривенного введения. В течение эксперимента животных регулярно взвешивали и корректировали дозы.

Обоснование объема выборки

Ранее авторами была проведена экспериментальная работа, направленная на исследование протективных эффектов НР в условиях доксорубин-индуцированного повреждения миокарда, в ходе которого было обосновано количество животных в экспериментальных группах, равное 10 [13, 18]. Для обоснования количества животных также использовали онлайн-программу <http://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/>.

Экспериментальный протокол

В исследовании использовали 50 половозрелых самцов крыс стока Wistar SPF-статуса массой 376 ± 52 г (12–14 недель). Источник получения – питомник лабораторных животных “Пушино”, Москва. Животные содержались в виварии барьерного типа в стандартных условиях со свободным доступом к воде и пище.

Характеристика экспериментальных групп представлена в табл. 1. Животные распределялись по экспериментальным группам перед введением фармакологического агента с помощью онлайн-генератора случайных чисел <https://www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1/>. Длительность наблюдения после достижения кумулятивной дозы НР составляла 2 месяца, что позволяло учесть возможные отсроченные побочные эффекты [19].

Таблица 1. Характеристика экспериментальных групп

Группа, <i>n</i>	Однократная доза	Режим введения (продолжительность)	Кумулятивная доза
Контроль (<i>n</i> = 10)	0.7 мл (0.9%-ный NaCl)	Трехкратное внутривенное введение 0.9%-ного NaCl с интервалом 2 дня → трехкратное внутривенное введение 0.9%-ного NaCl с интервалом 5 дней (3.5 недели)	4.2 мл
150NR (<i>n</i> = 10)	150 мг/кг	Трехкратное внутривенное введение НР с интервалом 2 дня → трехкратное внутривенное введение НР с интервалом 5 дней (3.5 недели)	900 мг/кг
300NR (<i>n</i> = 10)	300 мг/кг		1 800 мг/кг
450NR (<i>n</i> = 10)	450 мг/кг		2 700 мг/кг
600NR (<i>n</i> = 10)	600 мг/кг		3 600 мг/кг

Примечание. NR – никотинамид рибозид.

Начиная с исходной точки, клинический осмотр и взвешивание животных с помощью электронных лабораторных весов (AND DX-1200WP, Япония) проводили во время введения препаратов через каждые два дня, далее раз в неделю. Оценивали состояние шерстного покрова, поведение, потребление корма, координацию движений, тонус скелетных мышц, частоту и ритм дыхания и сердечных сокращений, наличие судорог, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, состояние слизистых оболочек (цвет, увлажненность), состояние зрачка, количество и консистенцию кала, наличие в кале крови, цвет мочи, наличие кровотечений из естественных отверстий (нос, уши, половые органы, анус, рот).

Эхокардиографический анализ

Перед проведением эхокардиографии животное наркотизировалось с использованием ингаляционной смеси – 1.7% изофлюрана, 98% кислорода – и размещалось на подогреваемом столике (Physitemp TCAT-2LV, Австралия). Эхокардиографические изображения были получены при стабилизации частоты сердечных сокращений на уровне 400 ± 30 уд./мин. Эхокардиограмму регистрировали при помощи The Vevo® 2100 (VisualSonics Inc., Канада) до, после окончания введения НР, через 1 и 2 месяца. Анализ объема и функции сердца проводили в М-режиме (одномерное сканирование). Измеряли конечно-диастолический внутренний диаметр левого желудочка (LVIDd, мм), конечно-систолический внутренний диаметр левого желудочка (LVIDs, мм), размер задней стенки в диастолу (LVPW, мм), размер передней стенки в диастолу (IVS, мм). Фракцию укорочения (FS) рассчитывали следующим образом:

$$FS (\%) = (LVIDd - LVIDs) / LVIDd \times 100. \quad (1)$$

Оценка толерантности к физической нагрузке

Толерантность к физической нагрузке оценивали с помощью беговой дорожки (Treadmill System for rats, TSE, Германия) до, после окончания введения НР, через 1 и 2 месяца. Скорость перемещения дорожки равнялась 25 м/мин, угол наклона составлял 15° . О полной усталости животного свидетельствовало отсутствие его реакции на электрический ток в течение 15 с (3 мА). Регистрировали время забега в секундах.

Оценка функциональной активности мезентериальных сосудов

Оценку сократительной и релаксационной активности эндотелия проводили с помощью проволочного миографа (DMT 620M, Дания). Во время вскрытия животных в условиях ингаляционного наркоза (4% изофлюрана и 96% кислорода) выполняли взятие тонкого кишечника с брыжейкой, которые помещали в чашку Петри, заполненную охлажденным раствором Кребса–Хензеляйта (К-Х, [мМ]: NaCl 119.0, KCl 4.7, KH_2PO_4 1.17, CaCl_2 1.6, MgSO_4 1.2, NaHCO_3 25.0, глюкоза 5.5, ЭДТА 0.03), после чего производили выделение участков артерий брыжейки 2-3-го порядка длиной 3 мм (как отражающих общее состояние сосудистой системы организма) [20]. Монтаж сосуда в камере миографа выполняли при помощи двух стальных проволок диаметром 40 мкм. Исследованию подвергали по 3 сосуда от каждого животного ($n = 15$, n сосудов = 45). После нормализации трансмурального давления осуществляли активацию сократительных механизмов с помощью инкубации в гиперкалиевом физиологическом солевом растворе (мМ): NaCl 78.2, KCl 60.0, KH_2PO_4 1.17, CaCl_2 1.6, MgSO_4 1.2, NaHCO_3 25.0, глюкоза 5.5, ЭДТА 0.03 и 10 мкМ фенилэфрина (ФЭ) с последующей повторной отмывкой раствором К-Х, состав которого указан выше.

Для исследования сократительной функции использовали протокол кумулятивного дозозависимого ответа на ФЭ, используемого в диапазоне концентраций от 0.1 до 10 мкМ.

Для исследования релаксационной активности сосудов осуществляли предварительное сокращение сосуда с помощью ФЭ на 60% от максимального. После этого сосуды инкубировали с ацетилхолином (АХ) по аналогичной сократительному ответу схеме до момента полной релаксации или отсутствия дальнейшей реакции [20].

Данные регистрировались с помощью программного обеспечения LabChart 8 (ADInstruments Ltd., Великобритания). Для получения дозозависимых кривых рассчитывали концентрацию, обеспечивающую 50% максимального эффекта (EC50, мкМ), максимальный эффект (Emax, %), а также площадь под кривой (AUC).

Морфологический анализ

Вскрытие и изъятие жизненно важных органов-мишеней, а именно сердца (перед остановкой сердца в левый желудочек вводился 10%-ный раствор КС1 до полной остановки сердечной деятельности в фазе диастолы), почек и печени проводилось в условиях ингаляционного наркоза (4% изофлюрана и 96% кислорода).

Органы фиксировали в 10%-ном забуференном формалине. Обезживание и пропитывание парафином проводили по стандартизированной методике в автоматическом гистологическом процессоре (Sakura Tissue-Tek Vip5Jr, Япония) в готовом растворе IsoPREP («БиоВитрум», Россия) и парафиновой среде HISTOMIX («БиоВитрум»). С использованием ротационного микротомы (Thermo Fisher Scientific HM 325, США) изготовляли срезы толщиной 2–3 мкм, которые в дальнейшем депарафинировали, дегидратировали в соответствии с рекомендациями производителя («БиоВитрум»).

Микроскопическое исследование и фоторегистрацию проводили на микроскопе Nis-E (Nicon®, Япония) при увеличении $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$.

Для анализа гистологических изменений были выбраны параметры, отражающие отклонения от гистологической нормы, специфические для каждого органа, в том числе дистрофические изменения в клетках паренхимы и стромы, нарушения кровообращения, воспалительная инфильтрация, наличие коллагенового фиброза.

Морфометрическую оценку части параметров проводили с использованием программ морфометрии Nis-Elements 4.3 Br (Nikon®, Япония) и ORBIT IMAGE ANALYSIS Version 3.64, а также полуколичественно в баллах по шкале от 0 до 3, где 0 – отсутствие выраженности признака, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – сильная выраженность.

Для определения степени выраженности фиброза проводили гистохимическую окраску с помощью набора красителей по Маллори («БиоВитрум»). Морфометрические исследования проводили с использованием программ Nis-Elements 4.3 Br (Nikon®, Япония) и ORBIT IMAGE ANALYSIS Version 3.64. На каждой фотографии определяли площадь (маска слоя в программе по цвету), занятую коллагеновыми волокнами (синий цвет), и затем вычисляли относительную площадь в процентах от общей площади среза.

Оценка фиброза выполнялась в разных областях левого желудочка сердца. Отдельно оценивались участки левого желудочка с кардиомиоцитами и интерстициальной тканью (интерстициальная зона), артерии среднего калибра в поперечном сечении (периваскулярная зона) и эпикард (эпикардальная зона). Обработывалось по 5 полей зрения в каждой зоне на каждое животное. По каждой зоне высчитывалось среднее арифметическое значение на исследуемый образец.

Гематологический анализ

Прижизненный забор крови (до, после окончания введения НР, через 1 и 2 месяца) в объеме 250 мкл в пробирки КЗ-ЭДТА осуществлялся из ретроорбитального синуса животных, находящихся в условиях изофлюранового наркоза (5% в индукционной камере) с целью контроля клинического состояния организма крыс в динамике эксперимента. С момента забора крови до момента анализа проходило не более 4 ч. Все это время образцы хранились при температуре 5 °С. Общий анализ крови был проведен с использованием ветеринарного гематологического анализатора Diatron Abacus Junior Vet (Diatron®, Австрия). Определяли следующие показатели крови: лейкоциты (WBC, г/л); лейкоцитарная фракция (гранулоциты (Gr, %), лимфоциты (Lym, 10^9 г/л), моноциты (Mi, %), эритроциты (RBC, $\times 10^{12}$ /л), гемоглобин (Hb, г/л); показатели эритроцитов (средняя концентрация гемоглобина (MCH, pg), средняя концентрация корпускулярного гемоглобина (MCHC, г/л), средний объем corpusкул (MCV, fl), гематокрит (Hct, %), тромбоциты (PLT, $\times 10^9$ /л)).

Биохимический анализ

Взятие крови производили из задней полой вены в условиях ингаляционного наркоза (4% изофлюрана и 96% кислорода) перед эвтаназией у каждого животного в объеме 2 мл в пробирки КЗ-ЭДТА. Хранение проб осуществлялось при температуре 5 °С не более 4 ч. После центрифугирования плазму помещали на хранение при –80 °С до проведения биохимического анализа при помощи ChemWell 2910 Combi (Awareness Technology, Inc., США). Определение концентрации АЛТ, АСТ и креатинина в плазме крови осуществлялось согласно инструкциям к соответствующим наборам АЛТ-ОЛЬВЕКС (001.015), АСТ-ОЛЬВЕКС (002.015), КРЕАТИНИН-ОЛЬВЕКС (004.007).

Иммуногистохимический анализ

Для проведения иммуногистохимического анализа были взяты две группы животных: контрольная и 450NR с тремя образцами (сердце) в каждой группе.

Фиксация материала после отбора проводилась в течение 24 ч в 4%-ном растворе PFA на фосфатном буфере при температуре 4 °С, далее сердца промывались фосфатным буфером и переносились в 30%-ный раствор сахарозы на 24 ч при температуре 4 °С с целью криопротекции. Материал заключался в Tissue-Tek® О.С.Т. Compound (США). Срезы изготавливались перпендикулярно длинной оси сердца на криотоме Minux FS800A Cryostats (Minux®, США), толщина срезов 15 мкм. Срезы помещались на предметные стекла с адгезивным покрытием PCI (Citotest Scientific Co., Ltd, Китай) и до окрашивания хранились при –20 °С. Демаскировка эпитопов проводилась в свежеприготовленном цитратном буфере Abcam pH 6.0 при 98 °С в течение 30 мин. Далее проводилась инкубация в растворе протеиназы К на фосфатном буфере во влажной камере при 37 °С в течение 10 мин, затем инкубация в 4%-ном растворе PFA на фосфатном буфере в течение 5 мин при комнатной температуре, далее промывание в блокирующем буфере 10 мин (3%-ный бычий сывороточный альбумин, 0.5%-ный PBST с Tween-20), двукратное промывание в 0.5%-ном PBST, двукратное промывание в PBS.

Проведение реакции TUNEL осуществляли согласно инструкции производителя с помощью In Situ Cell Death Detection Kit, Fluorescein, Roche, промывание в 0.5%-ном PBST 5 раз. Для иммунофлуоресцентного окрашивания использовались первичные антитела к холинацетилтрансферазе против кролика (Anti-Choline Acetyltransferase (ChaT) Antibody from goat (Sigma Aldrich Chemicon®, Merck Millipore AB144P, США)) в блокирующем буфере 1 : 100, вторичные антитела IgG козы к антителам кролика, поликлональные, меченные Alexa Fluor 647 (Alexa Fluor™ 647 donkey anti-goat IgG (Invitrogen™, США)) и DAPI (Sigma Aldrich, США). Окраска первичными антителами проводилась во влажной камере при температуре 4 °С в течение 12 ч, далее следовало пятикратное промывание в 0.5%-ном PBST. Дополнительная блокировка осуществлялась в блокирующем буфере 3%-ной Normal Donkey Serum в 0.5%-ном PBST в течение 30 мин при 37 °С. Окраска вторичными антителами проводилась в блокирующем буфере 1 : 1000 + DAPI в течение 60 мин во влажной камере при комнатной температуре. Срезы заключались в 70%-ный глицерин и сканировались на конфокальном микроскопе Nexcore NCF950 (Nexcore®, Китай). Для обработки изображений применялось программное обеспечение ImageJ (США) и QuPath (США).

Статистический анализ

Расчеты проводились с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., США) для ОС Windows 10 (Microsoft, Inc., США). Для определения нормальности распределения использовался критерий Шапиро–Уилка. При-

менение непараметрического теста, критерий Крускала–Уоллиса с критерием Данна было связано с отклонением анализируемых выборок от нормального распределения. Для оценки различий между разными группами нормального распределения использовали непарный параметрический one-way ANOVA тест. Результаты представлены с использованием средних арифметических значений (*Mean*) и стандартного отклонения (*SD*). Для данных миографии использовали нелинейную регрессию. Результаты EC50, Emax, AUC представлены с использованием *Mean* и ошибки среднего значения (*SEM*). Значения в группах были обработаны с использованием непараметрической статистики (медиана [25-й перцентиль; 75-й перцентиль]). Количественные показатели гистологических изменений, выраженные в баллах, были описаны с использованием *Mean* и *SEM*. В баллах замеряли те показатели, которые не подсчитывали морфометрически. Морфометрические показатели (а именно % фиброза) представлены в формате медиана [25-й перцентиль; 75-й перцентиль]. Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническое состояние и смертность животных

На фоне многократного введения НР в диапазоне доз 150–450 мг/кг ухудшения клинического состояния животных не отмечалось (рис. 1а). При введении НР в дозе 600 мг/кг наблюдалась гибель двух животных на следующий день после второго введения НР (кумулятивная доза НР составила 1200 мг/кг) (рис. 1б). В связи с тем, что смерть крыс происходила в ночной период, провести вскрытие и определить причину гибели животного было невозможно из-за развившегося посмертного аутолиза.

В ходе эксперимента не было отмечено кровотечений из естественных отверстий (нос, уши, половые органы, анус, рот), судорог, изменения координации движений, тонус скелетных мышц не отличался от нормы. Введение НР в различных дозах не оказывало влияния на реакцию на различные раздражители (тактильные, болевые, звуковые и световые).

Оценка сократительной функции миокарда

Многократное введение крысам НР в диапазоне доз 150–450 мг/кг не приводило к снижению FS левого желудочка ($p > 0.05$ по сравнению с исходным значением). У крыс с многократным введением 600 мг/кг НР отмечалось значимое снижение FS через месяц после окончания введения (на 14–23% от исходного уровня). Снижение сократительной функции левого желудочка сохранялось до момента окончания наблюдения (рис. 2).

Изменений в размерах передней и задней стенок левого желудочка в диастолу в динамике эксперимента у животных всех опытных групп не наблюдалось.

Оценка толерантности к физической нагрузке животных

Животные на фоне многократного введения НР в диапазоне доз 150–450 мг/кг демонстрировали сохранение толерантности к физической нагрузке в течение эксперимента. У крыс, получавших 600 мг/кг НР, отмечалось значимое снижение времени забега после окончания введения (после 226.0 [168.1; 240.4]; исходно 530.2 [365.8; 611.8]; $p < 0.01$). Данная тенденция сохранялась до окончания исследования (табл. 2).

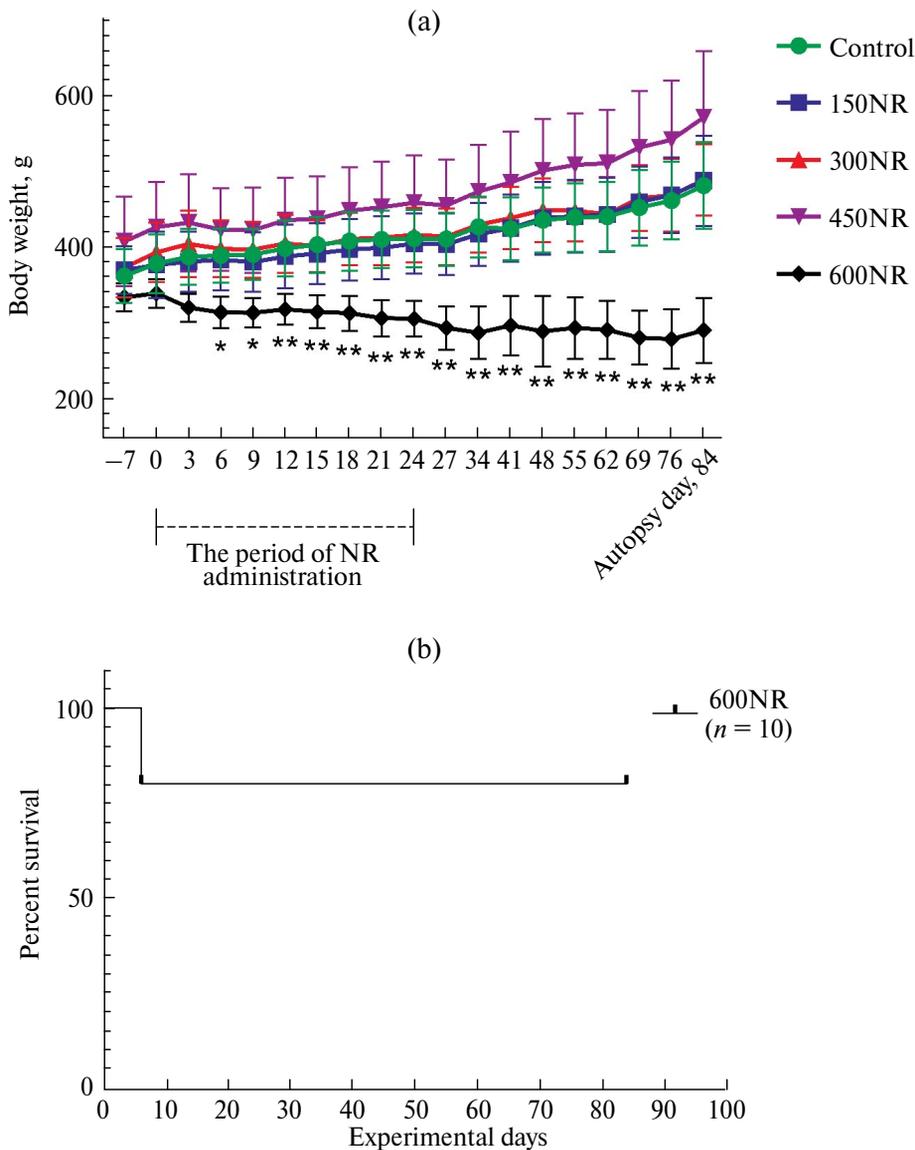


Рис. 1. (а) – Динамика массы тела животных экспериментальных групп. * – по сравнению с контрольной группой (Control), * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$. Данные представлены как $Mean \pm SD$. (б) – График оценки Каплана–Мейера для 600NR.

Оценка функциональной активности мезентериальных сосудов

У животных, получавших 150, 300, 450 мг/кг НР, не отмечалось нарушения сократительной и релаксационной функции мезентериальных сосудов ($p > 0.05$ по сравнению контролем) (рис. 3). Однако многократное введение НР в дозе 600 мг/кг приводило к снижению сократительной способности брыжечных артерий ($E_{max}(PE) = 109.83 \pm 2.19$ по сравнению с контрольной группой, $E_{max}(PE) = 139.42 \pm 5.97$; $p < 0.05$) (табл. 3).

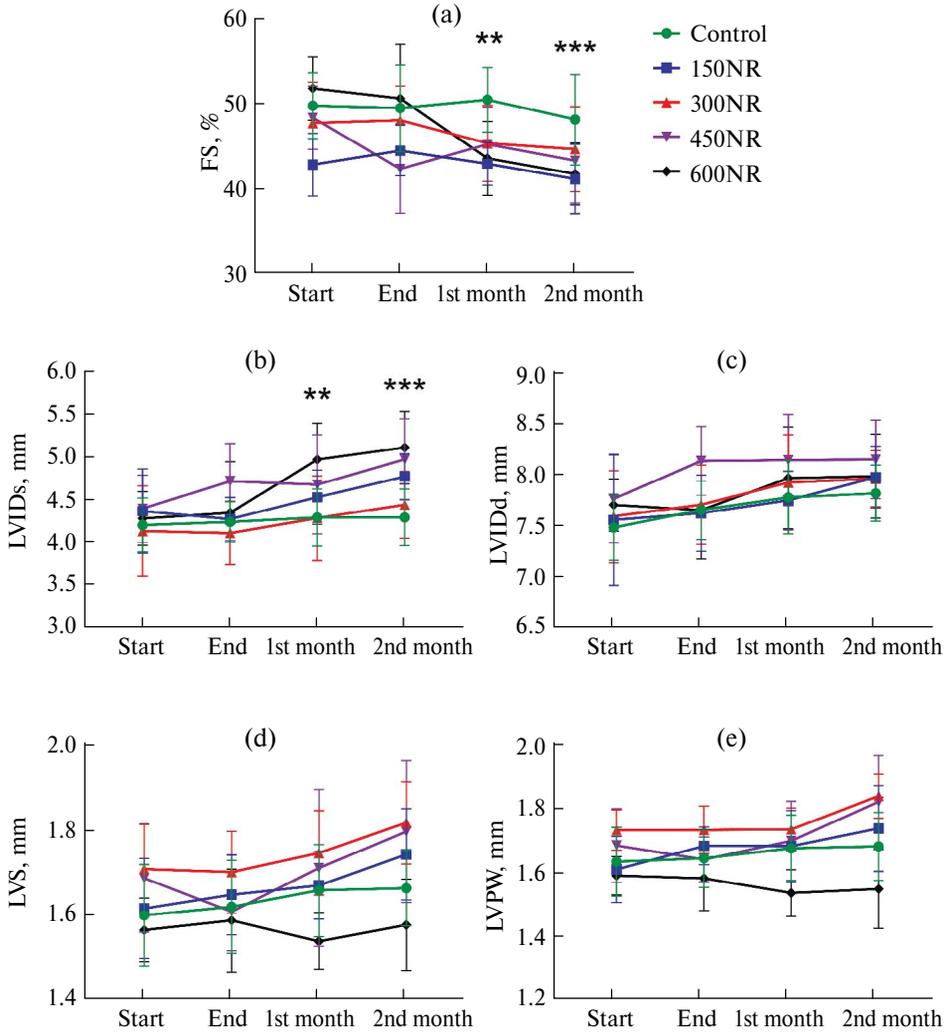


Рис. 2. (а) – Динамика фракции укорочения (FS) левого желудочка животных экспериментальных групп. (б) – Динамика конечно-систолического размера левого желудочка (LVIDs) животных экспериментальных групп. (в) – Динамика конечно-диастолического размера левого желудочка (LVIDd) животных экспериментальных групп. (г) – Динамика размера передней стенки в диастолу (LVS) животных экспериментальных групп. (д) – Динамика размера задней стенки в диастолу (LVPW) животных экспериментальных групп. * – по сравнению с исходным значением, ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$. Данные представлены как $Mean \pm SD$.

Морфологическая оценка сердца, почек, печени

Результаты гистохимической окраски по Маллори по исследуемым зонам левого желудочка приведены на рис. 4а–с. В образцах, полученных от крыс с многократным введением 150, 300, 450 мг/кг НР, не наблюдалось дистрофических изменений в миокарде. При этом многократное введение 600 мг/кг НР приводило к достоверному увеличению относительной площади фиброза в интерстициальной и периваскулярной зонах у животных. Кроме того, у животных, получавших 600 мг/кг НР, наблюдалось достоверное уменьшение массы сердца по сравнению с контрольной группой: (600NR – 0.94 (0.91; 1.03); Control – 1.25 (1.20; 1.31); $p < 0.001$) (рис. 4д).

Таблица 2. Динамика времени бега (в секундах) у животных экспериментальных групп

Группы	Исходно	Окончание введения	1-й месяц	2-й месяц
Контроль	219.0 [165.0; 349.0]	207.5 [140.5; 281.3]	200.0 [151.8; 235.8]	185.0 [150.0; 336.3]
150NR	346.5 [218.3; 988.3]	200.0 [171.5; 1041]	240.0 [215.5; 1076]	464.0 [299.0; 724.8]
300NR	262.0 [211.8; 412.8]	191.0 [178.0; 211.0]	272.0 [168.0; 408.0]	233.0 [211.0; 282.0]
450NR	483.5 [229.3; 523.5]	286.5 [233.3; 418.3]	262.5 [207.3; 348.8]	334.0 [315.0; 490.0]
600NR	530.2 [365.8; 611.8]	226.0 [168.1; 240.4] **	239.2 [224.8; 248.8] *	231.4 [176.2; 296.2] **

Примечания. * – по сравнению с исходным значением, * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$. Данные представлены как медиана [25-й перцентиль; 75-й перцентиль].

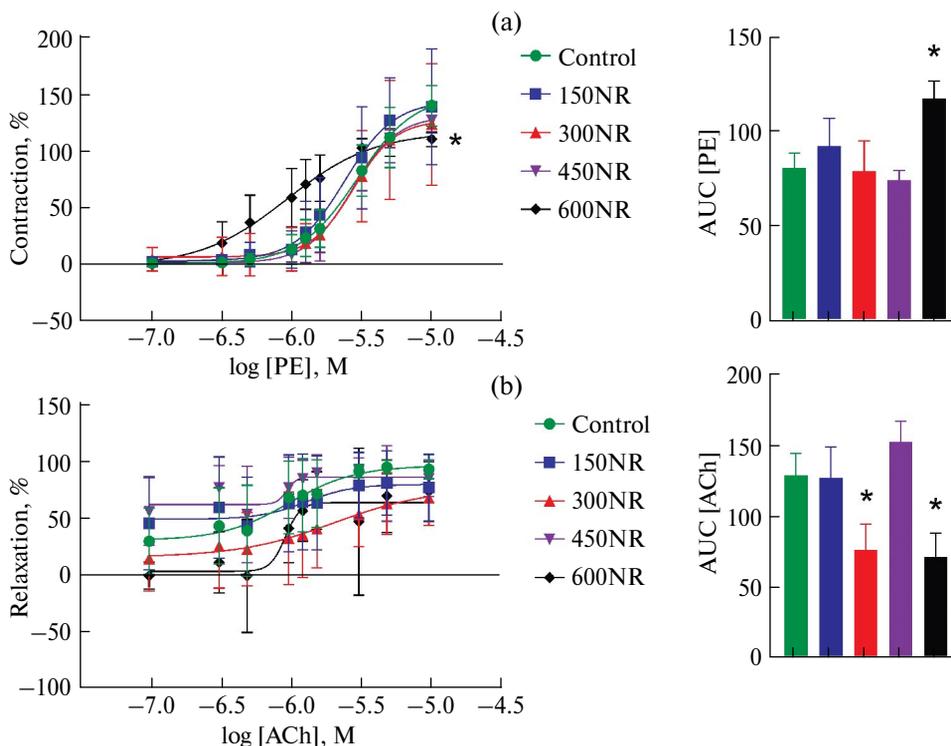


Рис. 3. (а) – Кумулятивная кривая сократимости и значения площади под кривой (AUC) у животных экспериментальных групп. (б) – Кумулятивная кривая расслабления и значения площади под кривой (AUC) у животных экспериментальных групп. * – по сравнению с контрольной группой (Control), $p < 0.05$.

Таблица 3. Логарифмические значения концентрации, обеспечивающей 50% максимального эффекта (EC₅₀, мкМ), максимальный эффект (E_{max}, %) у животных экспериментальных групп

Агонист	Параметр	Группы				
		контроль	150NR	300NR	450NR (n = 9)	600NR (n = 9)
PE	logEC ₅₀ , M	-5.53 ± 0.04	-5.62 ± 0.06	-5.55 ± 0.06	-5.56 ± 0.02	-6.04 ± 0.06 ^{*#}
	E _{max} , %	139.42 ± 5.97	138.50 ± 17.06	123.09 ± 17.93	126.27 ± 3.73	109.84 ± 2.19 ^{*#}
ACh	logEC ₅₀ , M	-6.001 ± 0.1237	-5.876 ± 0.2342	-5.67 ± 0.40	-6.01 ± 0.07	-6.03 ± 0.06
	E _{max} , %	93.50 ± 2.79	81.34 ± 9.502	68.35 ± 8.21 ^{*#/#/@/^}	91.70 ± 3.87	73.84 ± 8.77

Примечания. * – по сравнению с контрольной группой (Control); # – по сравнению с 150NR, 300NR и 450NR группами (^{*#} – $p < 0.05$). Данные представлены как Mean ± SEM.

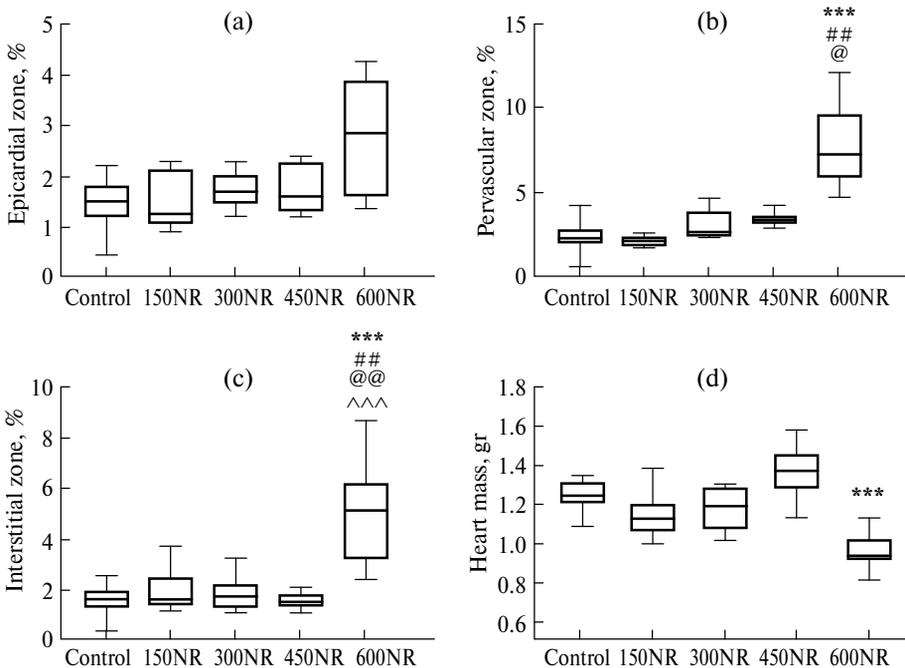


Рис. 4. Процент фиброза в эпикардиальной (а), периваскулярной (б) и интерстициальной (с) зонах левого желудочка у животных экспериментальных групп. (д) – Масса сердца у животных экспериментальных групп. * – По сравнению с контрольной группой (Control); # – по сравнению с 150NR группой; @ – по сравнению с 300NR группой; ^ – по сравнению с 450NR группой (^{*#/#/@/^} – $p < 0.01$; ^{**/#/#/@/@/^} – $p < 0.01$; ^{***/###/@/@/@/^} – $p < 0.001$). Данные представлены как медиана [25-й процентиль; 75-й процентиль].

Образцы почек животных, которым многократно вводили 150 и 300 мг/кг НР, характеризовались нормальным гистологическим строением, канальцы не расширены, воспалительной инфильтрации, некроза и фиброза не отмечалось, гиалиновые цилиндры не определялись. У животных с многократным введением НР в дозе 450 мг/кг выявлялись слабовыраженные дистрофические изменения канальцев тубулоинтерстиция: локальная вакуольная дистрофия и атрофия эпителия, при этом увеличение дозы приводило к более выраженным дистрофическим изменениям – помимо атрофии и дистрофии, определялись гиалиновые цилиндры и умеренная воспалительная инфильтрация (табл. 4, рис. 5а).

Таблица 4. Морфометрические параметры почек животных экспериментальных групп

Группа	Дистрофия канальцев, баллы	Некроз эпителия канальцев, баллы	Нодулярная воспалительная инфильтрация, баллы	Гиалиновые цилиндры, баллы
Контроль	0.25	0	0.125 ± 0.08	0
150NR	0.18 ± 0.04	0	0	0
300NR	0.12 ± 0.06	0	0.08 ± 0.03	0
450NR	0.35 ± 0.08*	0	0.15 ± 0.02	0
600NR	0.29 ± 0.12*	0	0.35 ± 0.14*	0.22 ± 0.08*

Примечания. * – по сравнению с контрольной группой (Control), $p < 0.05$. Данные представлены как *Mean ± SEM* (полуколичественная оценка в баллах).

У животных, которым выполняли многократное введение НР в дозах 150, 300, 450 мг/кг, не было выявлено морфологических изменений тканей печени. В образцах группы животных, получавших 600 мг/кг НР, определялись слабовыраженные дистрофические изменения, неравномерное расширение синусоидных капилляров (рис. 5b).

Результаты клинического анализа крови

Во всех опытных группах изменений в картине красной и белой крови не наблюдалось. Результаты клинического анализа крови животных экспериментальных групп представлены в табл. 5.

Результаты биохимического анализа крови

У животных с многократным введением НР в дозах 150, 300 и 450 мг/кг НР изменений уровней АЛТ, АСТ, креатинина не наблюдалось ($p > 0.05$ по сравнению с контролем). В то же время у крыс, получавших 600 мг/кг НР, через 2 месяца наблюдения отмечалось увеличение АСТ и АЛТ по сравнению с контрольной группой животных. Результаты биохимических показателей представлены на рис. 6.

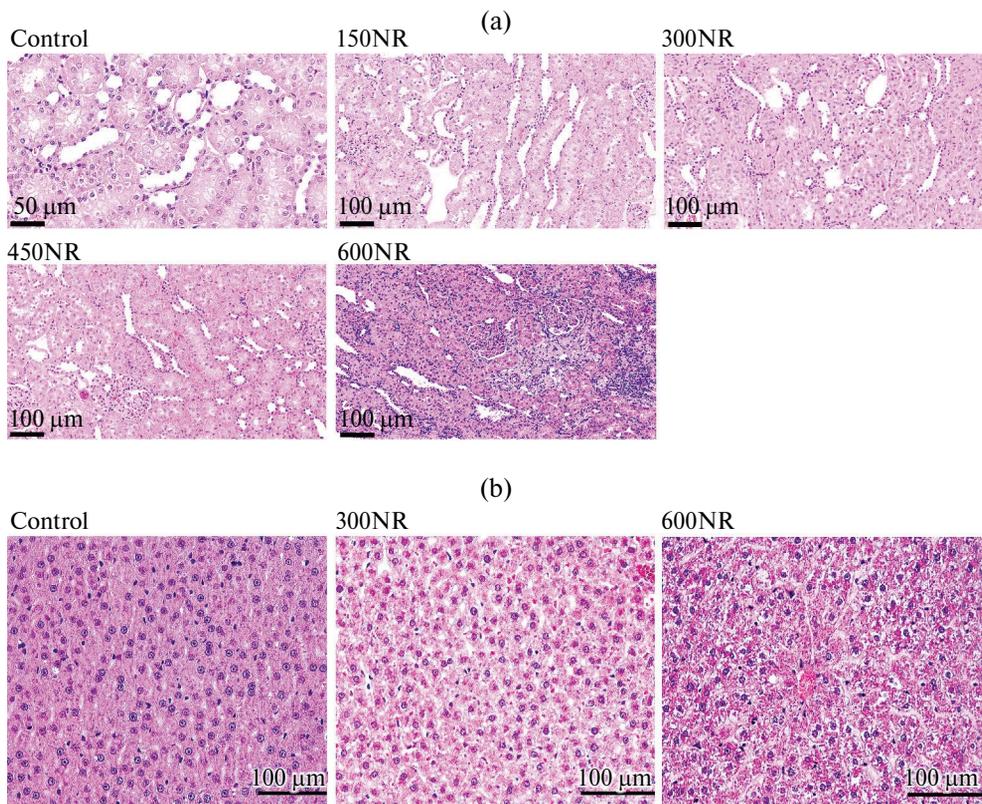


Рис. 5. (а) – Репрезентативные фотографии почки животных экспериментальных групп. Окраска гематоксилином-эозином, $\times 50$, $\times 100$. (б) – Репрезентативные фотографии печени животных экспериментальных групп. Окраска гематоксилином-эозином, $\times 100$.

Таблица 5. Результаты клинического анализа крови у животных экспериментальных групп

Этап	Группа				
	Контроль	150NR	300NR	450NR	600NR
WBC, 10^9 g/l					
Исходно	10.9 [9.2; 13.6]	11.9 [10.2; 14.4]	11.1 [8.8; 13.2]	11.4 [10.5; 13.4]	10.9 [9.2; 13.6]
Окончание введения	9.4 [7.4; 11.0]	9.8 [8.3; 11.3]	9.6 [6.7; 10.3]	11.3 [8.9; 11.5]	9.4 [7.4; 11.0]
1-й месяц	8.5 [8.2; 11.2]	12.5 [10.6; 14.2]	11.9 [9.9; 12.6]	9.2 [8.9; 10.5]	8.5 [8.2; 11.2]
2-й месяц	7.6 [7.0; 8.1]	10.6 [8.8; 12.4]	10.1 [8.6; 10.8]	8.4 [7.0; 9.9]	7.6 [7.0; 8.1]

Таблица 5. Продолжение

Этап	Группа				
	Контроль	150NR	300NR	450NR	600NR
LYM, 10 ⁹ g/l					
Исходно	8.7 [6.6; 12.3]	7.7 [6.9; 9.6]	7.5 [6.3; 9.3]	10.2 [9.5; 11.3]	8.7 [6.6; 12.3]
Окончание введения	8.4 [6.2; 9.1]	7.2 [5.8; 8.6]	7.1 [4.9; 7.6]	8.5 [6.1; 9.9]	8.4 [6.2; 9.1]
1-й месяц	6.4 [6.2; 7.8]	7.3 [6.5; 9.1]	7.6 [5.4; 8.5]	6.9 [6.3; 7.5]	6.4 [6.2; 7.8]
2-й месяц	6.2 [4.9; 6.5]	5.8 [4.8; 7.6]	5.9 [4.5; 6.7]	5.7 [5.2; 6.5]	6.2 [4.9; 6.5]
GRA, 10 ⁹ g/l					
Исходно	2.5 [1.5; 2.9]	3.4 [2.8; 4.4]	3.5 [1.9; 3.9]	1.3 [0.8; 1.6]	2.5 [1.5; 2.9]
Окончание введения	1.0 [0.5; 1.6]	2.1 [0.6; 3.2]	1.6 [0.8; 3.1]	0.9 [0.3; 1.7]	1.0 [0.5; 1.6]
1-й месяц	3.7 [3.5; 4.1]	4.2 [3.7; 4.7]	4.1 [2.9; 4.6]	2.6 [2.0; 2.8]	3.7 [3.5; 4.1]
2-й месяц	2.8 [2.3; 3.1]	4.2 [3.3; 4.9]	3.4 [2.8; 4.1]	2.3 [2.0; 3.0]	2.8 [2.3; 3.1]
MI, %					
Исходно	2.6 [0.6; 7.4]	5.3 [3.4; 6.2]	2.9 [1.2; 6.1]	3.2 [2.1; 3.6]	2.6 [0.6; 7.4]
Окончание введения	5.3 [2.4; 9.7]	1.5 [0.8; 3.3]	4.3 [0.6; 7.0]	1.3 [0.8; 5.3]	5.3 [2.4; 9.7]
1-й месяц	1.4 [0.9; 3.4]	2.1 [1.2; 4.9]	3.50 [1.6; 6.9]	2.7 [1.2; 4.5]	1.4 [0.9; 3.4]
2-й месяц	4.1 [3.4; 6.4]	1.6 [1.4; 3.9]	1.5 [0.9; 4.9]	3.9 [2.2; 5.7]	4.1 [3.4; 6.4]

Таблица 5. Продолжение

Этап	Группа				
	Контроль	150NR	300NR	450NR	600NR
RBC, 10 ¹² /l					
Исходно	8.2 [7.9; 8.5]	8.2 [7.9; 8.5]	8.5 [8.1; 8.8]	7.9 [7.8; 7.9]	8.2 [7.9; 8.5]
Окончание введения	8.6 [8.5; 8.7]	8.5 [8.1; 8.7]	8.7 [8.0; 8.9]	8.4 [8.0; 8.6]	8.6 [8.5; 8.7]
1-й месяц	8.9 [8.7; 8.9]	8.5 [8.4; 8.8]	8.6 [8.3; 8.9]	8.4 [8.4; 8.6]	8.9 [8.7; 8.9]
2-й месяц	8.4 [8.2; 8.5]	8.2 [7.9; 8.3]	8.2 [8.0; 8.5]	8.2 [8.0; 8.4]	8.4 [8.2; 8.5]
HGB, g/l					
Исходно	166.0 [166.0; 168.0]	163.0 [162.8; 167.0]	168.0 [162.5; 171.5]	162.5 [160.0; 164.5]	166.0 [166.0; 168.0]
Окончание введения	169.5 [165.0; 173.3]	166.5 [162.5; 177.5]	167.0 [164.0; 171.0]	166.0 [163.0; 168.0]	169.5 [165.0; 173.3]
1-й месяц	177.0 [173.0; 180.0]	172.0 [169.5; 176.0]	173.0 [168.0; 177.0]	175.0 [172.0; 177.0]	177.0 [173.0; 180.0]
2-й месяц	166.5 [162.5; 171.0]	161.0 [157.0; 163.3]	161.0 [157.5; 164.0]	165.0 [161.5; 166.0]	166.5 [162.5; 171.0]
HCT, %					
Исходно	34.6 [34.2; 35.6]	33.2 [32.9; 34.5]	34.3 [32.9; 35.6]	34.7 [33.9; 34.9]	34.6 [34.2; 35.6]
Окончание введения	34.9 [34.2; 35.2]	33.8 [32.9; 36.4]	35.0 [34.1; 35.2]	34.1 [32.4; 35.1]	34.9 [34.2; 35.2]
1-й месяц	36.2 [35.7; 37.2]	34.7 [34.3; 35.9]	35.8 [33.9; 36.1]	36.7 [35.9; 36.9]	36.2 [35.7; 37.2]
2-й месяц	34.0 [33.4; 34.3]	32.9 [32.0; 33.9]	33.7 [32.5; 34.1]	33.4 [32.5; 34.2]	34.0 [33.4; 34.3]

Таблица 5. Окончание

Этап	Группа				
	Контроль	150NR	300NR	450NR	600NR
PLT, 10 ⁹ g/l					
Исходно	731.5 [714.0; 768.3]	798.0 [715.3; 840.3]	856.0 [784.0; 960.5]	777.0 [552.5; 825.0]	731.5 [714.0; 768.3]
Окончание введения	754.5 [591.3; 807.0]	765.5 [695.3; 806.8]	787.0 [700.0; 1029]	818.0 [734.0; 839.0]	754.5 [591.3; 807.0]
1-й месяц	770.0 [701.0; 887.0]	825.0 [730.0; 862.0]	757.0 [650.0; 916.0]	751.0 [566.0; 813.0]	770.0 [701.0; 887.0]
2-й месяц	801.5 [742.8; 812.0]	762.5 [730.3; 833.0]	688.5 [633.0; 816.3]	703.0 [574.0; 730.5]	801.5 [742.8; 812.0]

Примечания. GR – гранулоциты; Hb – концентрация гемоглобина в цельной крови; HCT – гематокрит; LYM – лимфоциты; Ml – моноциты; PLT – абсолютное содержание тромбоцитов; RBC – красные кровяные тельца; WBC – белые кровяные тельца. Данные представлены как медиана [25-й процентиль; 75-й процентиль].

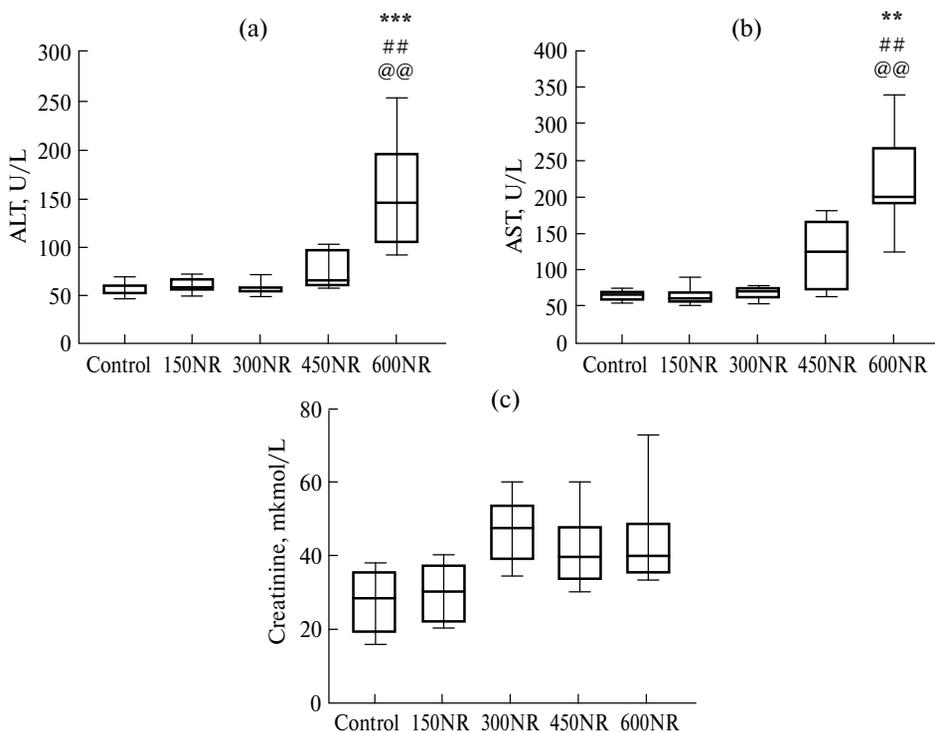


Рис. 6. Биохимические показатели животных экспериментальных групп. (а) – АЛТ. (б) – АСТ. (с) – Креатинин. * – по сравнению с контрольной группой (Control); # – по сравнению с 150NR группой; @ – по сравнению с 300NR группой (*/#/@ – $p < 0.05$; **/##/@@ – $p < 0.01$; ***/###/@@@ – $p < 0.001$). Данные представлены как медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль).

Таким образом, многократное внутривенное введение НР в дозах 150, 300 и 450 мг/кг характеризуется биосовместимостью. Известно, что предшественники НАД⁺ способны проникать через гематоэнцефалический барьер, и в связи с этим их часто рассматривают в роли протективных агентов в отношении нейродегенеративных заболеваний [21]. Ранее авторами было выявлено токсическое влияние многократного внутривенного введения 450 мг/кг НР на структуры кохлеарного отдела слухового анализатора [19]. С учетом данных сведений отдельной подзадачей явилось исследование процента апоптоза в проводящей системе сердца. Кроме того, на основании ранее опубликованной работы [13] авторы предположили, что доза НР, равная 450 мг/кг, может являться наиболее терапевтически эффективной в отношении доксорубицин-индуцированного повреждения миокарда, в связи с этим данная доза была выбрана для последующей постановки иммуногистохимического анализа.

Иммуногистохимический анализ ганглиев миокарда

На фоне многократного внутривенного введения НР в дозе 450 мг/кг не было выявлено изменений в количестве TUNEL-позитивных клеток в парасимпатических нейронах миокарда по сравнению с контрольной группой (рис. 7).

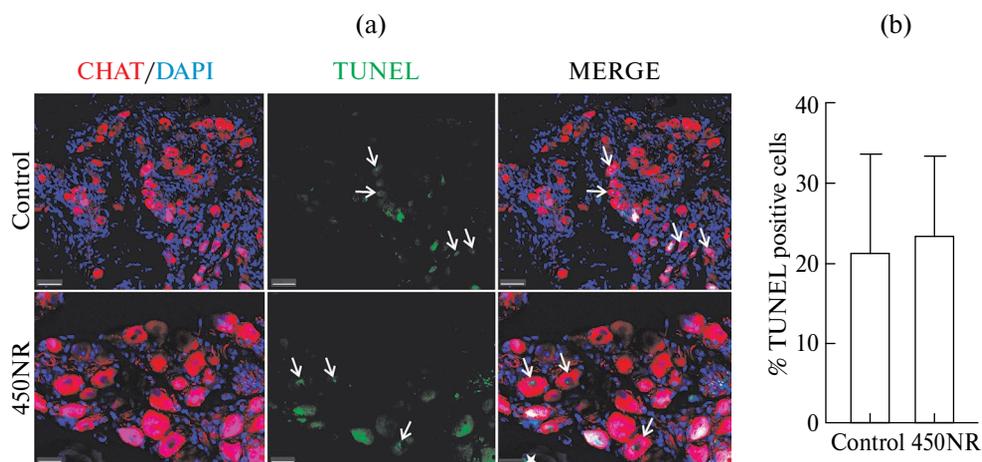


Рис. 7. Оценка апоптоза с помощью TUNEL-анализа у животных экспериментальных групп. (а) – TUNEL-позитивные клетки видны в виде ядер, окрашенных в зеленый цвет. Стрелками указаны нейроны в апоптозе, звездочкой – аутофлуоресценция мышцы, $\times 200$. (б) – Процент TUNEL-позитивных клеток также был рассчитан и показан в виде графика. Данные представлены как *Mean* \pm *SD*.

Полученные результаты дополняют сведения о профиле биосовместимости НР в дозе 450 мг/кг.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Настоящая работа посвящена исследованию биосовместимости различных доз НР при его многократном внутривенном введении крысам стока Wistar.

В ходе работы была продемонстрирована биосовместимость НР в дозах 150, 300, 450 мг/кг при его многократном введении крысам, что подтверждалось отсутствием нарушений сократительной активности левого желудочка, функционального состоя-

ния мезентериальных сосудов, отсутствием отклонений в клиническом состоянии животных и в их ответе на физическую нагрузку. Морфологических и функциональных изменений в печени и почках также не было выявлено.

Увеличение дозы НР характеризовалось наличием ряда побочных эффектов. Так, на фоне многократного внутривенного введения НР в дозе 600 мг/кг животным отмечалось ухудшение клинического состояния животных и гибель части их, у выживших животных наблюдалось снижение толерантности к физической нагрузке, функциональной активности сердечной мышцы левого желудочка с наличием патоморфологических изменений в миокарде, нарушение сократительной функции артерий брыжжейки. Кроме того, использование указанной дозы фармакологического агента приводило к снижению массы сердца, что может быть связано как с увеличением фиброзной ткани, так и с уменьшением мышечных структур миокарда на фоне токсического действия НР [22].

Кроме того, на фоне применения НР в указанной дозе выявлялись нарушения в функционировании почек и печени, что подтверждалось дистрофическими изменениями в гистологических образцах данных органов, а также значимым увеличением основных биохимических показателей, а именно АЛТ, АСТ. Таким образом, многократное внутривенное введение НР в дозе от 600 мг/кг обладает выраженными побочными эффектами в отношении миокарда, почек, печени.

Ранее авторами были получены данные о токсическом влиянии НР на структуры кохлеарного отдела слухового анализатора [19]. В основе данного эффекта может лежать нарушение митохондриального метаболизма, приводящее к апоптотической гибели клеток [23, 24]. В связи с этим отдельной подзадачей явилось изучение нейротоксического влияния НР на ганглии автономной нервной системы сердца. Было показано, что многократное внутривенное введение 450 мг/кг НР не оказывает токсического влияния на парасимпатические ганглии автономной нервной системы миокарда.

Можно предположить, что побочные эффекты НР обусловлены нарушением митохондриального метаболизма. В единичных работах, посвященных изучению эффектов SIRT6, было показано, что на фоне гиперпотребления жизненно важных микроэлементов наблюдается ингибирование SIRT3 посредством сумоилирования [25], а также снижение экспрессии ядерных SIRT6 [26, 27], что впоследствии приводит к активации поли(АДФ-рибоза)-полимераз (PARP) на фоне выраженного увеличения НАД⁺ и запуску воспалительных и апоптотических процессов. Выраженный дисбаланс НАД⁺/НАДН и НАД⁺-зависимых SIRT6 также ассоциирован с повреждением митохондрий и клеточной гибелью.

Таким образом, многократное внутривенное введение НР в диапазоне доз 150–450 мг/кг характеризуется биосовместимостью. Однако увеличение дозы до 600 мг/кг приводит к выраженной дисфункции миокарда, почек и печени.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Я. Г. Т., Е. Ю. П.), сбор данных (Е. Ю. П., Д. В. М., И. А. З., Л. А. М., М. О. М., А. В. О., Е. В. Ш.), обработка данных (Е. Ю. П., Н. Ю. С., Д. В. С.), написание и редактирование манускрипта (Е. Ю. П., Я. Г. Т., В. А. Д., В. А. Ц.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации “Создание новых препаратов для лечения и профилактики доксорубин-индуцированной кардиомиопатии” (№ 123021000147-5).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях

с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по контролю содержания и использования лабораторных животных Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова Минздрава, номер протокола-заявки 21-14ПЗ#V1.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bieganski P, Brenner C* (2004) Discoveries of nicotinamide riboside as a nutrient and conserved NRK genes establish a preiss-handler independent route to NAD⁺ in fungi and humans. *Cell* 117: 495–502.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00416-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00416-7)
2. *Trammell SAJ, Schmidt MS, Weidemann BJ, Redpath P, Jaksch F, Dellinger RW, Li Z, Abel ED, Migaud ME, Brenner C* (2016) Nicotinamide riboside is uniquely and orally bioavailable in mice and humans. *Nat Commun* 7: 1–14.
<https://doi.org/10.1038/ncomms12948>
3. *Bogan KL, Brenner C* (2008) Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: A molecular evaluation of NAD⁺ precursor vitamins in human nutrition. *Annu Rev Nutr* 28: 115–130.
<https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155443>
4. *Yang T, Chan NYK, Sauve AA* (2007) Syntheses of nicotinamide riboside and derivatives: Effective agents for increasing nicotinamide adenine dinucleotide concentrations in mammalian cells. *J Med Chem* 50: 6458–6461.
<https://doi.org/10.1021/jm701001c>
5. *Cantó C, Menzies KJ, Auwerx J* (2015) NAD⁺ Metabolism and the Control of Energy Homeostasis: A Balancing Act between Mitochondria and the Nucleus. *Cell Metab* 22: 31–53.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.05.023>
6. *Conze D, Brenner C, Kruger CL* (2019) Safety and Metabolism of Long-term Administration of NIAGEN (Nicotinamide Riboside Chloride) in a Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Clinical Trial of Healthy Overweight Adults. *Sci Rep* 9: 9772.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-46120-z>
7. *Podyacheva E, Toropova Y* (2022) SIRT1 activation and its effect on intercalated disc proteins as a way to reduce doxorubicin cardiotoxicity. *Front Pharmacol* 13: 1–23.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1035387>
8. *Podyacheva E, Toropova Y* (2021) Nicotinamide Riboside for the Prevention and Treatment of Doxorubicin Cardiomyopathy. Opportunities and Prospects. *Nutrients* 13: 3435.
<https://doi.org/10.3390/nu13103435>
9. *Chen M, Tan J, Jin Z, Jiang T, Wu J, Yu X* (2024) Research progress on Sirtuins (SIRT) family modulators. *Biomed Pharmacother* 174.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116481>
10. *Yaku K, Palikhe S, Izumi H, Yoshida T, Hikosaka K, Hayat F, Karim M, Iqbal T, Nitta Y, Sato A, Migaud ME, Ishihara K, Mori H, Nakagawa T* (2021) BST1 regulates nicotinamide riboside metabolism via its glycohydrolase and base-exchange activities. *Nat Commun* 12: 1–17.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-27080-3>
11. *Kulikova V, Shabalina K, Nerinowski K, Dölle C, Niere M, Yakimov A, Redpath P, Khodorkovskiy M, Migaud ME, Ziegler M, Nikiforov A* (2015) Generation, release, and uptake of the NAD precursor nicotinic acid riboside by human cells. *J Biol Chem* 290: 27124–27137.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M115.664458>
12. *Damgaard MV, Treebak JT* (2023) What is really known about the effects of nicotinamide riboside supplementation in humans. *Sci Adv* 9: 1–11.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.adi4862>
13. *Podyacheva E, Semenova N, Zinserling V, Mukhametdinova D, Goncharova I, Zelinskaya I, Sviridov E, Martynov M, Osipova S, Toropova Y* (2022) Intravenous Nicotinamide Riboside Administration Has a Cardioprotective Effect in Chronic Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy. *Int J Mol Sci* 23: 1–19.
<https://doi.org/10.3390/ijms232113096>

14. *Podyacheva EY, Semenova NY, Artyukhina ZE, Zinserling VA, Toropova YG* (2024) Morphology of Doxorubicin-Induced Organopathies under Different Intravenous Nicotinamide Riboside Administration Modes. *J Evol Biochem Physiol* 60: 547–563.
<https://doi.org/10.1134/S0022093024020108>
15. *Conze DB, Crespo-Barreto J, Kruger CL* (2016) Safety assessment of nicotinamide riboside, a form of Vitamin B3. *Hum Exp Toxicol* 35: 1149–1160.
<https://doi.org/10.1177/0960327115626254>
16. *Kourtzidis IA, Dolopikou CF, Tsiftsis AN, Margaritelis N V, Theodorou AA, Zervos IA, Tsantarliotou MP, Veskoukis AS, Vrabas IS, Paschalis V, Kyparos A, Nikolaidis MG* (2018) Nicotinamide riboside supplementation dysregulates redox and energy metabolism in rats: Implications for exercise performance. *Exp Physiol* 103: 1357–1366.
<https://doi.org/10.1113/EP086964>
17. *Pham TX, Bae M, Kim MB, Lee Y, Hu S, Kang H, Park YK, Lee JY* (2019) Nicotinamide riboside, an NAD⁺ precursor, attenuates the development of liver fibrosis in a diet-induced mouse model of liver fibrosis. *Biochim Biophys Acta – Mol Basis Dis* 1865: 2451–2463.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.06.009>
18. *Podyacheva E, Shmakova T, Kushnareva E, Onopchenko A, Martynov M, Andreeva D, Toropov R, Cheburkin Y, Levchuk K, Goldaeva A, Toropova Y* (2022) Modeling Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy With Fibrotic Myocardial Damage in Wistar Rats. *Cardiol Res* 13: 339–356.
<https://doi.org/10.14740/cr1416>
19. *Ivanov SA, Podyacheva EY, Zhuravskii SG, Toropova YG* (2024) Ototoxic effect of nicotinamide riboside. *Bull Exp Biol Med* 177: 639–642.
<https://doi.org/10.47056/0365-9615-2024-177-5-601-605>
20. *Zelinskaya IA, Toropova YG* (2018) Wire myography in modern scientific researches: Methodical aspects. *Reg blood Circ Microcirc* 17: 83–89.
<https://doi.org/10.24884/1682-6655-2018-17-1-83-89>
21. *Li F, Wu C, Wang G* (2024) Targeting NAD Metabolism for the Therapy of Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Neurosci Bull* 40: 218–240.
<https://doi.org/10.1007/s12264-023-01072-3>
22. *Zullo A, Mancini FP, Schleip R, Wearing S, Klingler W* (2021) Fibrosis: Sirtuins at the checkpoints of myofibroblast differentiation and profibrotic activity. *Wound Repair Regen* 29: 650–666.
<https://doi.org/10.1111/wrr.12943>
23. *Hwang ES, Song SB* (2020) Possible adverse effects of high-dose nicotinamide: Mechanisms and safety assessment. *Biomolecules* 10: 1–21.
<https://doi.org/10.3390/biom10050687>
24. *Knip M, Douek IF, Moore WPT, Gillmor HA, McLean AEM, Bingley PJ, Gale EAM* (2000) Safety of high-dose nicotinamide: A review. *Diabetologia* 43: 1337–1345.
<https://doi.org/10.1007/s001250051536>
25. *Wang T, Cao Y, Zheng Q, Tu J, Zhou W, He J, Zhong J, Chen Y, Wang J, Cai R, Zuo Y, Wei B, Fan Q, Yang J, Wu Y, Yi J, Li D, Liu M, Wang C, Zhou A, Li Y, Wu X, Yang W, Chin YE, Chen G, Cheng J* (2019) SENP1-Sirt3 Signaling Controls Mitochondrial Protein Acetylation and Metabolism. *Mol Cell* 75: 823–834.e5.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.008>
26. *Marcus JM, Andrabi SA* (2018) Sirt3 regulation under cellular stress: Making sense of the ups and downs. *Front Neurosci* 12: 1–8.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00799>
27. *Leung K, Quezada M, Chen Z, Kanel G, Kaplowitz N* (2018) Niacin-Induced Anicteric Microvesicular Steatotic Acute Liver Failure. *Hepatol Commun* 2: 1293–1298.
<https://doi.org/10.1002/hep4.1253>

Biocompatibility of Nicotinamide Riboside at Varying Dosages via Intravenous Administration

**E. Yu. Podyacheva^{a, #}, N. Yu. Semenova^a, D. V. Mukhametdinova^a, I. A. Zelinskaya^a,
L. A. Murashova^a, A. V. Onopchenko^a, E. V. Shchelina^a, M. O. Martynov^a,
V. A. Dyachuk^a, V. A. Zinserling^a, and Ya. G. Toropova^a**

*^aAlmazov National Medical Research Centre, Ministry of Health of the Russian Federation,
Saint Petersburg, Russia*

**e-mail: e-ekaterinapodyachevaspb@gmail.com*

Nicotinamide riboside (NR) serves as a precursor to NAD⁺. Numerous studies in the literature report on the oral administration of NR, demonstrating its beneficial effects on the progression of diseases such as cardiovascular, neurodegenerative, renal, hepatic, and others. Previously, a hypothesis was proposed by the authors suggesting a protective effect of intravenous NR administration against doxorubicin-induced myocardial damage. However, under this mode of administration, special attention must be given to the biocompatibility of NR when used at therapeutically effective doses. Thus, the aim of this study was to assess the biocompatibility of various NR doses with repeated intravenous administration in Wistar rats. The study employed doses of 150, 300, 450, and 600 mg/kg of NR (cumulative doses of 900, 1800, 2700, and 3600 mg/kg, respectively). During the study, the biocompatibility of NR was demonstrated at doses of 150, 300, and 450 mg/kg with repeated intravenous administration in rats. Even at the highest dose of 450 mg/kg, repeated intravenous administration showed no adverse effects on the parasympathetic ganglia of the autonomic nervous system in the heart. However, increasing the dose of NR led to several adverse side effects, including animal mortality, reduced tolerance to physical exertion, impaired cardiovascular function, and morphological and functional changes in the myocardium, liver, and kidneys.

Keywords: nicotinamide riboside, intravenous administration, dose dependence, morphology, cardiac ganglia of the autonomic nervous system, biocompatibility