

## «МЯГКОЕ РАЗОБЩЕНИЕ» С ПОМОЩЬЮ 2,4-ДИНИТРОФЕНОЛА КАК ВОЗМОЖНЫЙ ПОДХОД К БОРЬБЕ СО СТАРЕНИЕМ

Мягкое (частичное) разобщение окислительных реакций и синтеза АТФ способствует снижению количества активных форм кислорода. Именно эта способность долгое время привлекала внимание геронтологов к 2,4-динитрофенолу и другим «мягким разобщителям» (МР). Однако в последнее время, в связи с расширением наших знаний об эффекте ограничения питания, исследователи обратились к другим аспектам влияния МР – в частности, к их способности снижать массу тела и уменьшать ожирение. Исторически 2,4-динитрофенол был препаратом для похудения, а не способом борьбы с активными формами кислорода. Токсичность соединения заставила отказаться от его применения, но положительное системное действие на самые разные физиологические показатели модельных экспериментальных объектов вновь вернуло 2,4-динитрофенол в число потенциальных геропротекторов. Основная сложность, с которой сталкиваются экспериментаторы при работе с МР, заключается в поиске действующей концентрации, так как отсутствие эффекта в конкретной работе может быть обусловлено лишь неверным выбором оптимальной дозы разобщителя.

**Ключевые слова:** старение, «мягкое разобщение», митохондрии, АТФ, ограничение питания, геропротекторы

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания МГУ, ч. 2 (фундаментальные научные исследования, № АААА-А16-116021660098-8).

**Для цитирования:** Хохлов А.Н., Моргунова Г.В. «Мягкое разобщение» с помощью 2,4-динитрофенола как возможный подход к борьбе со старением. Клиническая геронтология. 2020; 26 (11–12): 53–56. <https://doi.org/10.26347/1607-2499202011-12053-056>

## MILD UNCOUPLER 2,4-DINITROPHENOL AS A POSSIBLE ANTI-AGING DRUG

Mild (partial) uncoupling of oxidative reactions and ATP synthesis helps to reduce the amount of reactive oxygen species. It is this ability that has long attracted gerontologists to 2,4-dinitrophenol (DNP) and other «mild uncouplers» (MU). Recently, however, as our knowledge of the effect of dietary restriction has expanded, researchers have turned to other aspects of the effect of MU, in particular its ability to reduce weight and decrease obesity. The 2,4-dinitrophenol used to be a weight loss drug, rather than a mean to reduce reactive oxygen species. The toxicity of the compound forced to abandon its use, but the positive systemic effect on a variety of physiological indicators of model experimental objects again returned 2,4-dinitrophenol to the number of potential geroprotectors. The main difficulty that presents when working with MU is finding the effective concentration, since the lack of effect in a particular work can only be due to the wrong choice of the optimal dose of the uncoupler.

**Keywords:** aging, mild uncoupling, mitochondria, ATP, calorie restriction, geroprotectors

The authors declare no competing interests.

**Funding:** the work is done by the Order of the Moscow State University, Part 2 (Fundamental Research #АААА-А16-116021660098-8).

**For citation:** Khokhlov AN, Morgunova GV. Mild uncoupler 2,4-dinitrophenol as a possible anti-aging drug. *Clin Gerontol*. 2020; 26 (11–12): 53–56. <https://doi.org/10.26347/1607-2499202011-12053-056>

**А.Н. Хохлов,  
Г.В. Моргунова**

Московский  
государственный  
университет имени  
М.В. Ломоносова,  
Сектор эволюционной  
цитogerонтологии  
биологического  
факультета, Москва  
Российская Федерация

**Alexander Khokhlov,  
Galina Morgunova**

Evolutionary  
Cytogerontology Sector,  
School of Biology,  
Lomonosov Moscow State  
University, Moscow,  
Russian Federation

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время силы многих ученых, в том числе геронтологов, направлены на изучение эффекта ограничения питания. Активно ведутся исследования влияния режимов и калорийности питания, а также физической нагрузки на продолжительность жизни и возраст-зависимые показатели. Подробно изучаются возрастные изменения метаболизма глюкозы и липидов. Среди способов имитирования ограничения питания предлагается также «мягкое разобщение», при котором часть протонов проходит через внутреннюю мембрану митохондрий вхолостую, а не используется АТФ-синтазой для производства АТФ из АДФ [1,2], т.е. часть энергии рассеивается в виде тепла. В связи с этим перспективным способом устранения последствий переизбытка представляется удаление избытка энергии за счет «мягкого разобщения».

«Мягкое разобщение» окислительных реакций и синтеза АТФ способствует уменьшению мембранного потенциала митохондрий и соответственно трансмембранного градиента протонов. Это приводит к уменьшению производства активных форм кислорода (АФК) [3]. Несмотря на то что исходно 2,4-динитрофенол (ДНФ) – один из самых известных разобщителей – использовали как препарат для похудения, именно способность снижать концентрацию АФК долгое время привлекала внимание ученых к разобщителям. Считается, что при «мягком разобщении» происходит значительное уменьшение количества АФК, но при этом сохраняется достаточный уровень производства АТФ. Именно этим ДНФ и другие подобные препараты обязаны своим причислением к ряду потенциальных геропротекторов. Однако теперь исследователи снова обращаются к разобщителям как к миметикам ограничения питания.

О том, что ДНФ может ускорять метаболизм, было известно еще в XIX в. [4]. Во время Первой мировой войны обнаружили, что солдаты и фабричные рабочие, подвергавшиеся воздействию ДНФ (который входил в состав боеприпасов) в больших дозах, впоследствии теряли массу тела [2]. Это инициировало использование ДНФ в 1930-х гг. как препарата, способствующего похудению. Чуть позже обнаружилось, что лекарство обладает рядом серьезных побочных действий – вызывает сыпь на коже и появление катаракты,

а в некоторых случаях приводит к летальному исходу [2,4]. Классические симптомы, наблюдаемые при передозировке ДНФ, – гипертермия, тахикардия, усиленное потоотделение и тахипноэ, также может наблюдаться пожелтение кожи и склеры [5]. Уже в конце 1930-х гг. ДНФ признали токсичным соединением, его использование в качестве лекарства было прекращено. Однако нелегальное применение ДНФ сохранилось, и даже в наше время некоторые спортсмены-культуристы используют его для так называемой «сушки» (к сожалению, без летальных случаев также не обходится [5]). Одна из особенностей ДНФ, которая выгодно отличает его от многих других препаратов для похудения, заключается в том, что он способствует катаболизму в первую очередь углеводов и жиров, но не белков [6]. Вероятно, этот результат реализуется через следующий механизм. «Мягкое разобщение» в скелетных мышцах приводит к увеличению потребности мышечных клеток в энергии, а это, в свою очередь, приводит к активации АМРК (АМФ-активируемой протеинкиназы) и как следствие к увеличению поглощения глюкозы, а также одновременному усилению окисления жирных кислот [7].

Механизм действия ДНФ и других разобщителей был изучен гораздо позже его неудачного клинического применения. ДНФ является протонофором, который обеспечивает утечку протонов сквозь внутреннюю мембрану митохондрий. В кислой среде ДНФ находится в протонированной нейтральной форме, он способен диссоциировать и высвобождать протон при входе в щелочную среду митохондриального матрикса. После выхода из матрикса в кислой среде цитозольного пространства митохондрий отрицательно заряженная анионная форма ДНФ снова протонируется, после чего возвращается обратно в матрикс для доставки полученного протона [8]. Помимо ДНФ, существуют также и другие протонофоры – FCCP (carbonyl cyanide p-trifluoromethoxyphenyl hydrazone), CCCP (carbonylcyanide-3-chlorophenylhydrazone), BAM15 ((2-fluorophenyl)6-[(2-fluorophenyl)amino](1,2,5-oxadiazolo[3,4-e]pyrazin-5-yl)amine), CR4 (1,3-bis(3,5-dichlorophenyl)urea) и т.д. Эти препараты активно исследуются в последние десятилетия на самых разных модельных объектах, однако они являются более сильными разобщителями, чем ДНФ, поэтому в клинических целях их применение маловероятно [2].

Уже известно, что ДНФ и другие разобщители в низких дозах улучшают физиологические показатели в доклинических исследованиях на животных – снижают концентрацию липидов и сахаров в крови, а также содержание маркеров окислительного стресса в тканях, уменьшают массу тела и даже продлевают жизнь. ДНФ достоверно увеличивает среднюю продолжительность жизни мух, мышей и крыс [9–12]. Кроме того, показаны его нейро- и кардиопротекторные свойства [1,2,13–15]. Например, у мышей с болезнью Хантингтона ДНФ в низких дозах улучшает моторные функции [14], также он индуцирует нейрогенез эмбриональных стволовых клеток (ESCs) мыши, увеличивая количество и длину нейритов в расчете на клетку [16].

Известно, что «мягкое разобщение» присуще некоторым тканям, причем тканям с высокими энергетическими требованиями. Например, оно защищает мышечные волокна I типа от митохондриальной дисфункции и возрастных повреждений, хотя такие волокна отличаются высокими показателями активности и потребления кислорода [17]. Напротив, мышцы, в состав которых преимущественно входят волокна наименее активного типа (тип II) с более низким поглощением кислорода, оказываются подверженными возрастному дефициту АТФ. Кроме того (вероятно, за счет «мягкого разобщения»), птицы, у которых уровень потребления кислорода значительно выше, чем у млекопитающих аналогичного размера, живут дольше [18].

Несмотря на многочисленные подтверждения положительного влияния «мягкого разобщения», мнения специалистов о возможности клинического применения ДНФ сильно расходятся. Некоторые авторы считают бесперспективным попытки использовать соединение в качестве лекарства для похудения и геропротектора [3], другие настроены оптимистично и полагают, что ДНФ можно считать перспективным, если принимать его в невысоких дозах [2]. Кроме того, некоторые специалисты полагают, что можно использовать не сам ДНФ и другие «мягкие разобщители», а их низкотоксичные аналоги либо препараты, влияющие на естественный способ разобщения, например через белки UCP [19,20]. Необходимо отметить, что специфического антидота при отравлении ДНФ не существует [5]. Если принять, что этот протонофор все же можно будет использовать в клинике, то необходимо

с большой осторожностью подходить к выбору действующей дозы. Даже в доклинических исследованиях такой выбор до сих пор остается сложным вопросом. Используя разработанные в нашей лаборатории цитогеронтологические модельные системы [21–23], мы изучили потенциальное геропротекторное действие ДНФ в широком диапазоне действующих концентраций, в том числе с помощью трудозатратных методов оценки влияния препарата на жизнеспособность клеток [24]. Однако у нас нет уверенности, что мы смогли обнаружить действительно «мягко разобщающие» концентрации. Для однозначного ответа нам необходимо будет проверить, как изменятся поглощение  $O_2$  клетками и уровень АТФ при воздействии ДНФ в тех концентрациях, которые мы выбрали.

Спектр болезней, развитие которых потенциально сможет отсрочить или замедлить ДНФ, довольно велик. Среди них нейродегенеративные и сердечно-сосудистые патологии, расстройства метаболизма (включая диабет), аутоиммунные заболевания – все они относятся к так называемым болезням старения. Действие ДНФ системное, что позволяет полагать, что это соединение и другие «мягкие разобщители» действительно являются хорошими кандидатами на роль геропротекторов. Однако пока не представляется возможным устранить возможные токсические эффекты и сделать из «мягких разобщителей» относительно безопасное лекарство.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sack MN. Mitochondrial depolarization and the role of uncoupling proteins in ischemia tolerance. *Cardiovas. Res.* 2006; 72 (2): 210-219. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.07.010>
2. Geisler JG. 2,4 dinitrophenol as medicine. *Cells.* 2019; 8 (3): 280. <https://doi.org/10.3390/cells8030280>
3. Mookerjee SA, Divakaruni AS, Jastroch M, et al. Mitochondrial uncoupling and lifespan. *Mech. Ageing. Dev.* 2010; 131 (7-8): 463-472. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.03.010>
4. Goldgof M, Xiao C, Chanturiya T, et al. The chemical uncoupler 2,4-dinitrophenol (DNP) protects against diet-induced obesity and improves energy homeostasis in mice at thermoneutrality. *J. Biol. Chem.* 2014; 289 (28): 19341-19350. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.568204>
5. Grundlingh J, Dargan PI, El-Zanfaly M, et al. 2,4-dinitrophenol (DNP): a weight loss agent with significant acute toxicity and risk of death. *J. Med. Toxicol.* 2011; 7 (3): 205-212. <https://doi.org/10.1007/s13181-011-0162-6>
6. Cutting WC, Tainter ML. Metabolic actions of dinitrophenol: with the use of balanced and unbalanced diets. *J. Am.*

- Med. Assoc. 1933; 101 (27): 2099-2102. <https://doi.org/10.1001/jama.1933.02740520009003>
7. Klaus S, Ost M. Mitochondrial uncoupling and longevity – A role for mitokines? *Exp. Gerontol.* 2020; 130: 110796. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110796>
8. Geisler JG. Targeting energy expenditure via fuel switching and beyond. *Diabetologia.* 2011; 54 (2): 237-244. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1932-4>
9. Miquel J, Fleming J, Economos AC. Antioxidants, metabolic rate and aging in *Drosophila*. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1982; 1 (2): 159-165. [https://doi.org/10.1016/0167-4943\(82\)90016-4](https://doi.org/10.1016/0167-4943(82)90016-4)
10. Padalko VI. Uncoupler of oxidative phosphorylation prolongs the lifespan of *Drosophila*. *Biochemistry (Moscow).* 2005; 70 (9): 986-989. <https://doi.org/10.1007/s10541-005-0213-1>
11. Caldeira da Silva CC, Cerqueira FM, Barbosa LF, et al. Mild mitochondrial uncoupling in mice affects energy metabolism, redox balance and longevity. *Aging. Cell.* 2008; 7 (4): 552-560. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2008.00407.x>
12. Падалко В.И., Леонова И.С., Козлова Е.В. Влияние 2,4-динитрофенола на интенсивность окислительных процессов в печени крыс в длительном эксперименте. *Усп. геронтол.* 2010; 23 (1): 98-103. Padalko VI, Leonova IS, Kozlova EV. [The effect of 2,4-dinitrophenol on the intensity of oxidative processes in the rat liver during prolonged experiment]. *Advances in Gerontology.* 2010; 23 (1): 98-103. Russian.
13. Plotnikov EY, Silachev DN, Jankauskas SS, et al. Mild uncoupling of respiration and phosphorylation as a mechanism providing nephro- and neuroprotective effects of penetrating cations of the SkQ family. *Biochemistry (Moscow).* 2012; 77 (9): 1029-1037. <https://doi.org/10.1134/S0006297912090106>
14. Wu B, Jiang M, Peng Q, et al. 2,4 DNP improves motor function, preserves medium spiny neuronal identity, and reduces oxidative stress in a mouse model of Huntington's disease. *Exp. Neurol.* 2017; 293: 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.03.020>
15. Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 2018; 1859 (9): 940-950. <https://doi.org/10.1016/j.bba-bio.2018.05.019>
16. Freitas-Correa L, Lourenco MV, Acquarone M, et al. 2,4-dinitrophenol induces neural differentiation of murine embryonic stem cells. *Stem. Cell. Res.* 2013; 11 (3): 1407-1416. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2013.09.016>
17. Amara CE, Shankland EG, Jubrias SA, et al. Mild mitochondrial uncoupling impacts cellular aging in human muscles in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007; 104 (3): 1057-1062. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610131104>
18. Skulachev VP. Mitochondria, reactive oxygen species and longevity: some lessons from the Barja group. *Aging. Cell.* 2004; 3 (1): 17-19. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2003.00076.x>
19. Padalko VI. Mild mitochondrial uncoupling as potentially effective intervention to slow aging. *Oxid. Antioxid. Med. Sci.* 2014; 3 (1): 27-42. <https://doi.org/10.5455/oams.161213.rv.012>
20. Demine S, Renard P, Arnould T. Mitochondrial uncoupling: a key controller of biological processes in physiology and diseases. *Cells.* 2019; 8 (8): 795. <https://doi.org/10.3390/cells8080795>
21. Khokhlov AN, Morgunova GV, Klebanov AA. Demographic approaches to the study of aging on cell cultures. *Moscow Univ. Biol. Sc. Bull.* 2019; 74 (4): 262-267. <https://doi.org/10.3103/S0096392519040060>
22. Morgunova GV, Klebanov AA. Impairment of the viability of transformed Chinese hamster cells in a nonsubcultured culture under the influence of exogenous oxidized guanoside is manifested only in the stationary phase of growth. *Moscow Univ. Biol. Sc. Bull.* 2018; 73 (3): 124-129. <https://doi.org/10.3103/S0096392518030136>
23. Khokhlov AN. Cell kinetic approaches to the search for anti-aging drugs: Thirty years after. *Moscow Univ. Biol. Sc. Bull.* 2018; 73 (4): 185-190. <https://doi.org/10.3103/S0096392518040041>
24. Morgunova GV, Karmushakov AF, Klebanov AA, et al. Studies into the effect of «mild» uncoupling with 2,4-dinitrophenol on the growth of Chinese hamster cell culture and its subsequent dying out in the stationary phase. *Moscow Univ. Biol. Sc. Bull.* 2019; 74 (3): 163-169. <https://doi.org/10.3103/S0096392519030088>

Поступила 13.07.2020

Принята к опубликованию 21.09.2020

Received 13.07.2020

Accepted 21.09.2020

## Сведения об авторах

Хохлов Александр Николаевич – д. б. н., заведующий сектором эволюционной цитогеронтологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Российская Федерация 119234 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет МГУ. Тел.: 8 (495) 939-15-90. E-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7454-7023>.

Моргунова Галина Васильевна – научный сотрудник сектора эволюционной цитогеронтологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Российская Федерация, Москва 119234, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет МГУ. Тел.: 8 (495) 939-15-90. E-mail: morgunova@mail.bio.msu.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5259-0861>.

## About the authors

Alexander N. Khokhlov – Sc. D. in Biology, Head of Evolutionary Cytogerontology Sector, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow. E-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7454-7023>.

Galina V. Morgunova – Research Fellow, Evolutionary Cytogerontology Sector, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow. E-mail: morgunova@mail.bio.msu.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5259-0861>.