

## ВЛИЯНИЕ АДЕМЕТИОНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА ПРИ РАЗВИТИИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ II-ГО ТИПА

ГОЦАК Ксения Юрьевна

студент

КАБАРГИНА Татьяна Александровна

студент

Воронежский государственный университет

г. Воронеж, Россия

*Статья посвящена оценке влияния адеметионина на показатели оксидативного статуса у лабораторных крыс в условиях развития неалкогольной жировой болезни печени на фоне сахарного диабета второго типа. В ходе работы исследованы основные показатели данных процессов. Показано, что действие тестируемого протектора приводило к снижению уровня окислительной модификации белков. При этом повышался уровень  $\alpha$ -токоферола – одного из главных антиоксидантов организма. Полученные данные могут свидетельствовать о наличии у адеметионина антиоксидантных свойств.*

**Ключевые слова:** сахарный диабет, неалкогольная жировая болезнь печени, окислительный стресс, адеметионин, окислительная модификация белков,  $\alpha$ -токоферол.

**Н**еалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – это жировая инфильтрация печени по данным визуальных тестов или гистологии при отсутствии злоупотребления алкоголем, использования стеатогенных медикаментов или врожденных нарушений. Понятие НАЖБП охватывает спектр поражений печени, включающий: жировую дистрофию (стеатоз печени) и жировую дистрофию с воспалением и повреждением гепатоцитов (неалкогольный или метаболический стеатогепатит – НАСГ) и фиброзом (с возможностью прогрессии с исходом в цирроз) [3].

Печень является детоксикационной «лабораторией» организма, а также метаболически активным органом, основным местом синтеза белков, липопротеинов и других важных молекул. При НАЖБП, повышенное окисление жирных кислот в митохондриях и активность цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) постоянно обеспечивают восстановительные процессы в цепи переноса электронов, что приводит к увеличению выработки активных форм кислорода (АФК). Избыточное производство АФК подавляет способность систем антиоксидантной защиты и вызывает дальнейшее окислительное повреждение. При активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) повреждаются мембраны гепатоцитов, их гибель запускает воспали-

тельную реакцию, создаёт предпосылки для активации фиброгенеза. При повреждении ДНК продуктами ПОЛ, свободными радикалами могут возникать мутации, запускающие процессы канцерогенеза. При действии АФК происходит нарушение нативной конформации белков с образованием крупных белковых агрегатов или фрагментация белковой молекулы. Наиболее важным следствием окислительной модификации белков (ОМБ) является инактивация ферментов. Кроме того модификация белков делает их более чувствительными к протеолизу [2]. Таким образом, окислительный стресс (ОС) играет ведущую роль в патогенезе НАЖБП и ускоряют развитие её более тяжёлых форм [8].

Важнейшим представителем жирорастворимых антиоксидантов является витамин Е – токоферол. Антиоксидантная активность токоферолов обусловлена их способностью передавать электроны фенольного кольца на липидные радикалы [7].

Так как повышенная выработка АФК и ОС определены как основные механизмы инсулинорезистентности, профиброгенных процессов и хронического воспалительного процесса [6], высокую актуальность на данный момент имеют исследования, направленные на поиск потенциальных веществ – гепатопротекторов, обладающих, в том числе, и ан-

тиоксидантными свойствами. В качестве такого препарата может выступать адеметионин, который уже успешно применяется в терапии других заболеваний печени, включая алкогольную болезнь печени, внутрипеченочный холестаз и вирусные гепатиты [5].

Цель данной работы заключалась в исследовании уровня  $\alpha$ -токоферола и оценке степени окислительной модификации белков в тканях печени крыс при развитии НАЖБП и введении адеметионина.

В качестве объекта исследования были выбраны самцы белых лабораторных крыс (*Rattus norvegicus*) массой 200-250 г, содержащиеся на стандартном режиме вивария. После периода акклиматизации в течение 1 недели крыс случайным образом разделили на три группы: группу 1, получавшую обычный корм и группы 2 и 3, получающие рацион с высоким содержанием жиров (состав: 10% сала, 20% сахарозы и 70% обычный корм). Через 10 недель для индукции СД2 вводили внутривентриально 1% стрептозоцин (СТЗ) в дозе 35 мг/кг; через 72 ч после инъекции СТЗ, уровень глюкозы в крови натощак измеряли с помощью глюкометра в течение двух дней непрерывно, и уровень глюкозы  $\geq 7,8$  ммоль/л использовался для указания на успешную модель диабета. Через 12 недель развивалась патология, у животных забирали материал для проведения исследования. Крысам из группы 3 после развития патологии вводили адеметионин перорально в дозе 70 мг/кг на протяжении 30 дней.

Метод оценки содержания  $\alpha$ -токоферола заключался в измерении оптической плотности хромогенного комплексного соединения, образующегося при взаимодействии  $\alpha$ -токоферола,  $\text{FeCl}_3$  и ортофенантролина. Исследуемый образец разбавляли 96% этанолом, перемешивали и центрифугировали при 3000g в течение 10 мин. После разделения фаз отбирали верхний слой в новые пробирки и выпаривали жидкость на водяной бане при 50°C. Сухой остаток разводили в 1 мл бензола, вносили 1 мл 0,025% спиртового раствора  $\text{FeCl}_3$ , перемешивали и инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре. Затем добавляли 1 мл 0,05% спиртового раствора ортофенантролина, перемешивали, инкубировали ещё 2 минуты и считывали по-

глощение раствора при 510 нм. Контрольный образец содержал бензол,  $\text{FeCl}_3$  и ортофенантролин. Концентрацию  $\alpha$ -токоферола определяли по калибровочной кривой.

Степень ОМБ анализировали с помощью измерения поглощения 2,4-динитрофенилгидразонов, образующихся в ходе реакции карбонильных остатков аминокислот с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ). 0,1 мл исследуемой сыворотки крови (0,3 мл гомогената) доводили 100 мМ фосфатным буфером, рН 7,4, до объема 1 мл и инкубировали в термостате при 37°C в течение 15 мин. После этого вносили в контрольную пробу 4 мл 2,5 М соляной кислоты, а в опытную – такой же объём 10 мМ 2,4-ДНФГ, растворенного в 2,5 М  $\text{HCl}$ . Пробирки перемешивали, инкубировали при 25°C в течение часа с периодическим перемешиванием. После инкубации добавляли 5 мл холодной 20% ТХУ, инкубировали при 4°C 15 минут. Пробирки затем центрифугировали при 3000g в течение 15 мин, белковый осадок оставляли, отбрасывали супернатант. Осадок белка промывали 4 мл 10% ТХУ и повторяли процедуру осаждения. Далее осадок механически разрушали, трижды промывали 4 мл смеси этанола и этилацетата в соотношении 1:1, затем осадок ресуспензировали в 2 мл 8 М мочевины и инкубировали в течение часа при 37°C. Поглощение опытных проб измеряли против контрольных при 370 нм. Расчёт концентрации карбонильных аминокислотных групп в белках (нМ) производили с помощью коэффициента молярной экстинкции  $\xi = 22,000 \text{ см}^{-1} \times \text{M}^{-1}$ . Полученные значения переводили в ммоль карбонильных групп на мг белка.

Показатели опытной группы животных сравнивались с контролем. Данные обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Результаты исследования показали, что развитие НАЖБП сопровождалось снижением уровня токоферола на 65% по сравнению с контрольным значением. Введение адеметионина восстанавливало активность антиоксидантной системы, так как отмечается повышение уровня токоферола в 1,46 раз относительно показателей животных с патологией. Уровень окисленных аминокислотных остатков при развитии патологии возрастал в 3,8 раз по

сравнению с контрольной группой, а при введении адеметионина снижался практически до уровня контрольных значений.

Вероятно, возрастание уровня токоферола и ОМБ происходило в ответ на повышенный синтез АФК при НАЖБП. Введение же адеметионина приводило к понижению интенсивности процессов окислительного стресса, что могло быть связано с наличием у адеметионина антиоксидантных свойств [1]. Адеметионин участвует в реакциях транссульфурирования, в результате которых происходит синтез глутатиона, необходимого для защиты клетки от свободных радикалов, детоксикации эндогенных и экзогенных ве-

ществ, а также таурина, необходимого для усиления конъюгации и сульфурирования желчных кислот, а в конечном итоге – их детоксикации. Также он участвует в процессах аминопропилирования как предшественник полиаминов – путресцина (стимулятор регенерации клеток и пролиферации гепатоцитов), спермидина и спермина, входящих в структуру рибосом. Полиамины являются эндогенными протекторами клетки, защищающими структуру ДНК от действия повреждающих агентов [4].

Таким образом, полученные результаты подтверждают антиоксидантную активность адеметионина при НАЖБП.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Корочанская Н.В.* S-адеметионин в терапии неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – Т. 191, № 7. – С. 68-73.
2. *Муравлева Л.Е.* Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1. – С. 74-78.
3. *Петунина Н.А.* Неалкогольная жировая болезнь печени при сахарном диабете 2-го типа // Медицинский совет. – 2016. – № 4. – С. 92-95.
4. *Птицина С.Н.* Уникальная роль адеметионина в метаболизме клетки и его фармакологический потенциал // Фарматека. – 2010. – № 20. – С. 26-34.
5. *Силивончик Н.Н.* Адеметионин: физиологические эффекты и применение в лечении заболеваний печени // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2017. – № 2. – С. 33-49.
6. *Hong T.* The Role and Mechanism of Oxidative Stress and Nuclear Receptors in the Development of NAFLD // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2021. V. 2021, № 6. P. 1-25.
7. *Jiang Q.* gamma-tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention // The American journal of clinical nutrition. 2001. V. 74, № 6. P. 714-722.
8. *Pattison D.J.* Dietary antioxidants in inflammatory arthritis: do they have any role in etiology or therapy? // Nature Clinical Practice Rheumatology. 2008. V. 4, № 11. P. 590-596.

## THE EFFECT OF ADEMETHIONINE ON THE INDICATORS OF OXIDATIVE STATUS IN THE DEVELOPMENT OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN EXPERIMENTAL TYPE II DIABETES MELLITUS

**GOTSAK Ksenia Yurievna**

Student

**KABARGINA Tatiana Aleksandrovna**

Student

Voronezh State University

Voronezh, Russia

*The article is devoted to the assessment of the effect of ademethionine on the indicators of oxidative status in laboratory rats with non-alcoholic fatty liver disease on the background of type 2 diabetes mellitus. In the course of the work, the main indicators of these processes were investigated. It was shown that the effect of the tested protector led to a decrease in the level of oxidative modification of proteins. At the same time, the level of alpha-tocopherol, one of the main antioxidants of the body, increased. The data obtained may indicate the presence of antioxidant properties in ademethionine.*

**Keywords:** diabetes mellitus, non-alcoholic fatty liver disease, oxidative stress, ademethionine, oxidative modification of proteins,  $\alpha$ -tocopherol.