

**ВЛИЯНИЕ СРЕДСТВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА СДВИГИ
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО БАЛАНСА В ПЕЧЕНИ
КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Канунникова Н.П.,

*доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры технологии,
физиологии и гигиены питания учреждения образования «Гродненский
государственный университет имени Я.Купалы», г. Гродно, Беларусь;
n.kanunnikova@grsu.by*

Лукиенко Е.П.,

*кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник
государственного предприятия “Институт биохимии биологически
активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;
lukgrodno@mail.ru*

Гуринович В.А.,

*кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
государственного предприятия “Институт биохимии биологически
активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;
gva77@list.ru*

Катковская И.Н.,

*научный сотрудник государственного предприятия “Институт биохимии
биологически активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;
inna_katkovskaya@mail.ru*

Титко О.В.,

*научный сотрудник государственного предприятия “Институт биохимии
биологически активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;
o.titko@mail.ru*

Мойсеенок А.Г.,

*доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси,
заведующий отделом витаминологии и нутрицевтики государственного
предприятия “Институт биохимии биологически активных соединений НАН
Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;
andrey.moiseenok@tut.by*

Аннотация. *Нами показано, что в печени крыс с экспериментальным сахарным диабетом (высокожировая диета + стрептозотоцин) увеличивается содержание продуктов свободнорадикального окисления, снижается восстанавливающая способность системы глутатиона и снижается содержание кофермента А. Введение лактоферрина, пантенола, витамина D или наночастиц селена, цинка и хрома приводит к частичному восстановлению*

окислительно-восстановительного баланса и повышению содержания кофермента А.

Ключевые слова: сахарный диабет; редокс-баланс; пантенол; лактоферрин; витамин D; микроэлементы

INFLUENCE OF METABOLIC THERAPY ON REDOX SHIFTS IN THE LIVER OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Kanunnikova N.P.,

Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Technology, Physiology and Hygiene of Nutrition of the Educational Institution «Yanka Kupala's Grodno State University», Grodno, Belarus;
n.kanunnikova@grsu.by

Lukiyenko E.P.,

Candidate of Medicine, Senior Researcher, State Institution "Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences", Grodno, Belarus;
Lukgrodno@mail.ru

Gurinovich V.A.,

PhD, Senior Researcher, State Institution "Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences", Grodno, Belarus;
gva77@list.ru

Katkovskaya I.N.,

Researcher, State Institution "Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences", Grodno, Belarus;
inna_katkovskaya@mail.ru

Titko O.V.,

Researcher, State Institution "Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences", Grodno, Belarus;
o.titko@mail.ru

Moiseenok A.G.,

Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of National Academy of Sciences, Head of Department of Vitaminology and Nutraceuticals, State Institution "Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences", Grodno, Belarus;
andrey.moiseenok@tut.by

Annotation. *We have shown that in the liver of rats with experimental diabetes mellitus (high-fat diet + streptozotocin), the content of free radical oxidation products increases, the reducing ability of the glutathione system decreases, and the content of*

coenzyme A decreases. The introduction of lactoferrin, panthenol, vitamin D or selenium, zinc and chromium nanoparticles lead to a partial restoration of the redox balance and an increase in the content of coenzyme A.

Keywords: *diabetes mellitus; redox balance; panthenol; lactoferrin; vitamin D; trace elements*

Сахарный диабет (СД) — хроническое неинфекционное заболевание, медико-социальная значимость которого становится все более существенной в современных условиях [1]. Наряду с наличием каскада воспалительных реакций в стенках сосудов, нарушений углеводного и липидного обменов, важное место в патогенезе метаболических нарушений при СД, занимает сдвиг окислительно-восстановительного баланса в клетках. Целью данной работы являлось изучение способности средств метаболической терапии противодействовать отклонениям редокс-баланса в печени в экспериментальной модели СД.

Эксперимент проводили на 70 крысах-самках линии Wistar массой 160-240г. Животных разделили на 6 экспериментальных групп: 1 группа – интактные животные, содержащиеся на стандартном рационе вивария; 2 группа – животные, получавшие высокожировую диету (ВЖД) *ad libitum* в течение 62 дней, а также введение стрептозотоцина (СТ) 2-кратно в/бр в дозе 20 мг/кг на 48 и 49 сутки эксперимента; 3-6 группам в/желудочно в течение 6 дней на фоне ВЖД+СТ вводили пантенол (ПЛ, 200 мг/кг, 3 гр.), лактоферрин (ЛФ, 100 мг/кг, 4 гр.), витамин D (5000 МЕ/кг, 5 гр.) и комбинации наноSe (1 мг/кг)+нано-Zn-Cr (Zn 0,5 мг/кг, Cr 1 мг/кг) (6 гр.). Контрольной группе животных вводили в/ж 0,9% раствор хлорида натрия параллельно с введением препаратов опытным группам. В экспериментальные группы отбирали животных, у которых уровень глюкозы после 7 дней введения СТ на фоне ВЖД превышал 15,7 ммоль/л.

В ткани печени были изучены показатели окислительного стресса: содержание соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) [2], которые характеризуют интенсивность образования свободнорадикальных продуктов, и активность антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД) [3] и каталазы [4]. Исследовали содержание восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) форм глутатиона как основного фактора поддержания редокс-баланса в клетках [5], активность глутатионпероксидазы (ГПО) [6], глутатионтрансферазы (ГСТ) [7] и глутатионредуктазы (ГР) [8], содержание S-глутатионилированных белков [9]. Измеряли также содержание кофермента А (КоА) и ацетил-КоА [10].

Нами установлено, что содержание ТБКРС увеличилось, тогда как активность СОД и каталазы достоверно не изменялась в печени животных на фоне ВЖД+СТ (таблица 1). Введение ПЛ, ЛФ, витамина D или микроэлементов

привело к снижению уровня ТБКРС до значений в контрольной группе и не оказало влияние на активность ферментов.

Таблица 1 – Содержание ТБКРС в печени крыс с ВЖД+СТ после введения лактоферрина, витаминов и микроэлементов (M±SD)

Группы	ТБКРС, нмоль/мг белка	СОД, Ед/мг белка	Каталаза, ммоль/мин/мг белка
Контроль	0,20±0,01	12,63±1,82	0,76±0,12
ВЖД+СТ	0,29±0,02*	14,56±1,52	1,03±0,75
ВЖД+СТ+ЛФ	0,23±0,02#	13,15±0,64	0,75±0,20
ВЖД+СТ+ПЛ	0,21±0,09#	13,77±2,88	0,75±0,18
ВЖД+СТ+витамин D	0,20±0,04#	13,07±1,28	0,85±0,06
ВЖД+СТ+наноSe+нано-Zn-Cr	0,20±0,07#	12,52±1,58	0,79±0,15

Примечания в таблицах 1-3: * – p<0,05 по отношению к контролю, # – p<0,05 по отношению к ВЖД+СТ

Содержание GSH в печени крыс достоверно снизилось на фоне ВЖД+СТ и оставалось сниженным при действии наночастиц хрома, цинка и селена, тогда как при введении ЛФ, ПЛ или витамина D уровень GSH несколько повысился (таблица 2). Содержание GSSG оказалось повышенным лишь при введении ПЛ или наночастиц микроэлементов. В результате соотношение GSH/GSSG и редокс-потенциал глутатиона были достоверно снижены во всех экспериментальных группах. Содержание S-глутатионилированных белков во всех экспериментальных группах не изменилось.

Таблица 2 – Показатели редокс-статуса системы глутатиона в печени крыс с ВЖД+СТ после введения лактоферрина, витаминов и микроэлементов, (нмоль/мг белка, M±SD)

Группы	GSH	GSSG	GSH/GSSG	Eh, мВ
Контроль	39,93±5,91	0,473±0,080	84,91±6,74	-202,10±2,30
ВЖД+СТ	25,79±5,84*	0,413±0,106	62,73±2,47*	-192,90±2,11*

ВЖД+СТ+ЛФ	29,48±9,26	0,474±0,117	61,66±9,61*	-193,50±5,45*
ВЖД+СТ+ПЛ	32,27±7,60	0,597±0,124#	54,05±4,95*#	-192,00±3,32*
ВЖД+СТ+витамин D	30,76±4,39	0,490±0,043	62,88±7,87*	-195,50±3,02
ВЖД+СТ+наноSe+нано-Zn-Cr	25,77±3,34*	0,527±0,109#	50,11±9,11*#	-189,50±3,24*

На фоне сахарного диабета произошло повышение активности ГТ на 55% при отсутствии изменений активности ГПО и ГР. ПЛ и витамин D способствовали нормализации активности ГТ. ПЛ привел также к повышению активности ГПО на 19%, тогда как наночастицы повысили активность ГР.

В печени крыс наблюдалось достоверное снижение концентрации свободного КоА-SH при отсутствии изменений уровня ацетил-КоА (таблица 3). Введение лактоферрина привело к повышению уровня и свободного КоА, и его смешанных дисульфидов выше значений в контроле, но снижению содержания ацетил-КоА.

Таблица 3 – Содержание КоА и ацетил-КоА в печени крыс с ВЖД+СТ после введения лактоферрина, витаминов и микроэлементов (нмоль/г, М±SEM)

Группы	КоА-SH	КоА-SH+ДТТ	Ацетил-КоА	Ацетил-КоА/ КоА-SH
Контроль	100,90±5,70	138,70±5,67	51,33±2,83	0,51
ВЖД+СТ	82,14±11,09*	131,00±11,58	58,73±4,19	0,71
ВЖД+СТ+ЛФ	114,00±8,51#	165,10±8,41*#	42,17±4,07*#	0,37
ВЖД+СТ+ПЛ	83,90±5,92*	166,50±12,29*#	44,97±2,49*#	0,54
ВЖД+СТ+витамин D	141,90±10,36*#	208,90±8,10*#	49,31±3,34#	0,35
ВЖД+СТ+наноSe+ нано-Zn-Cr	77,56±8,7*	134,30±6,57	57,79±2,27	0,75

При действии ПЛ также отмечалось увеличение содержания смешанных дисульфидов КоА и снижение уровня ацетил-КоА. На фоне действия витамина D содержание свободного КоА оказалось выше значений в контроле на 41%, а

смешанных дисульфидов КоА – на 50%, тогда как содержание КоА соответствовало значениям в контроле. При действии наночастиц микроэлементов ниже значений в контроле было содержание свободного КоА. В группах с введением лактоферрина и витамина D отмечено активное включение в метаболизм ацетил-КоА, что видно из соотношения фракций ацетил-КоА/КоА-SH.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют, что в печени крыс с экспериментальным сахарным диабетом увеличивается содержание продуктов свободнорадикального окисления, снижается восстанавливающая способность системы глутатиона и снижается содержание КоА. Введение лактоферрина, пантенола, витамина D или наночастиц селена, цинка и хрома приводит к частичному восстановлению окислительно-восстановительного баланса и повышению содержания КоА.

Список литературы

1. American Diabetes Association 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes – 2018 // *Diabetes Care*. – 2018. – Vol. 41 (Suppl 1). – P. 13–27.
2. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in rat brain tissues / M. Ďurfinová [et al.] // *Chem. Pap.* – 2007. – Vol. 61, № 4. – P. 321–325.
3. Сирота, Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т.В. Сирота // *Вопр. мед. химии*. – 1999. – Т. 45. – Вып. 3. – С. 263-272.
4. Hadwan, M.H., Abed, H.N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity / M.H. Hadwan, H.N. Abed // *Data Brief*. – 2016. – No. 6. – P. 194–199.
5. Rahman, I. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method / I. Rahman, A. Kode, S. K. Biswas // *Nat. Protoc.* – 2006. – Vol. 1, № 6. – P. 3159–3165.
6. Flohé, L., Günzler, W.A. Assays of glutathione peroxidase / L. Flohé, W. A. Günzler // *Methods Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 114–121.
7. Habig, W. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W. Habig, M. Pabst, W. Jakoby // *J. Biol. Chem.* – 1974. – Vol. 249, № 22. – P. 7130–7139.
8. Smith, I. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) / I. Smith, T. Vierheller, C. Thorne // *Anal. Biochem.* – 1988. – Vol. 175. – P. 408–413.

9. Menon, D. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde / D. Menon, P. G. Board // *Anal. Biochem.* – 2013. – Vol. 433. – P. 132–136.

10. Tsuchiya, Y. Methods for measuring CoA and CoA derivatives in biological samples / Y. Tsuchiya, U. Pham, I. Gout // *Biochem. Soc. Trans.* – 2014. – Vol. 42. – P. 1107–1111.