

ГЕПАТОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕТУЛИНА ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ У КРЫС

Буко В.У.¹, Кузьмицкая И. А.¹, Кирко С. Н.¹, Белоновская Е. Б.¹,
Нарута Е. Е.¹, Лукивская О. Я.¹, Шляхтун А. Г.¹, Ильич Т. В.²,
Заводник И. Б.²

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

buko@bioch.basnet.by

Окислительный стресс играет ключевую роль в развитии алкогольного поражения печени, что связано главным образом с наработкой активных форм кислорода в митохондриях [1]. Поэтому антиоксиданты находят широкое применение в коррекции алкогольного стеатогепатита (АСГ). Бетулин, пентациклический тритерпен, обладающий выраженными антиоксидантными свойствами [2], был выделен нами из коры берёзы и очищен со степенью чистоты 98%. В настоящей работе мы оценили защитные эффекты этого соединения у крыс с АСГ.

В опыте использовались белые крысы-самцы (200-230 г), которые получали 25% раствор этанола (4 г/кг, в/ж, 8 недель). Животным двух групп, получавших этанол, вводили бетулин (50 и 100 мг/кг, в/ж) на протяжении всего опыта. В сыворотке крови определяли активность маркерных ферментов крови. Печень использовалась для гистологических и биохимических исследований, а также для выделения митохондрий.

Печень крыс, получавших этанол, характеризовалась макро- и микровезикулярным стеатозом, очаговыми лимфоцитарными инфильтратами (до 10 в поле зрения), балонной дегенерацией гепатоцитов. Область суданофильной окраски срезов печени увеличивалась в 4,5 раза по сравнению с контролем. У животных, получавших бетулин, снижались размеры липидных вакуолей и уменьшалась воспалительная инфильтрация печени, особенно под влиянием высокой дозы бетулина (100 мг/кг).

Биохимические данные подтверждают эффективность высокой дозы бетулина. Введение этанола резко повышало по сравнению с контролем активности АСТ и АЛТ, а также содержание цитокинов TNF α и TGF β в сыворотке крови и только введение бетулина в дозе 100 мг/кг достоверно снижало эти показатели. Уровень триглицеридов в сыворотке крови и печени существенно повышался у крыс, получавших этанол, и снижался под влиянием обеих доз бетулина. Приведенные данные свидетельствуют, что бетулин в высокой дозе проявляет выраженный гепатопротективный и противовоспалительный эффекты, а также обладает противофиброзным потенциалом.

Введение этанола снижало в митохондриях показатель дыхательного контроля V3/V4 (ДК) и коэффициент АДФ/О, характеризующие соответственно митохондриальное дыхание и окислительное фосфорилирование. Бетулин в дозе 100 мг/кг достоверно повышал показатель ДК для субстратов

митохондриального комплекса I (пируват+малат) и комплекса II (сукцинат+ротенон) и нормализовал отношение АДФ/О для субстратов обоих типов. Низкая доза бетулина (50 мг/кг) увеличивала отношение АДФ/О с меньшей эффективностью. Потребление алкоголя снижало активность митохондриальных ферментов, НАДН-дегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы и, отражающих активности митохондриальных комплексов I, II и IV, соответственно. Бетулин дозозависимо активировал НАДН-дегидрогеназу и сукцинатдегидрогеназу, не влияя на активность цитохром с оксидазы. Длительное введение этанола способствует Ca^{2+} -зависимому набуханию митохондрий, обусловленного повышенным порообразованием. Бетулин препятствует этому процессу, приводя при введении высокой дозы бетулина показатель открытия митохондриальных пор МРТ практически к контрольному уровню.

Хемилюминисценция митохондрий, усиленная люцигенгином, резко повышалась (более чем в 3 раза) у крыс, получавших этанол, свидетельствуя об активной выработке супероксиданиона. Этот показатель достоверно снижался под влиянием обеих доз бетулина (соответственно, в 2 и 3 раза). В аналогичной степени бетулин снижал и выработку конечных продуктов перекисного окисления липидов, повышенную у животных с АСГ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что бетулин в дозе 100 мг/кг угнетает прогрессирование стеатоза печени и воспалительной реакции у крыс с АСГ. Нами продемонстрировано, что введение бетулина, обладающего свойствами ловушки АФК и антиоксидантными свойствами, улучшает показатели митохондриального дыхания и окислительного фосфорилирования, восстанавливает активность митохондриальных комплексов I и II, нормализует процесс Ca^{2+} -зависимого порообразования в митохондриях, снижая показатель проницаемости внутренней митохондриальной мембраны (МРТ). Ca^{2+} -зависимые поры в мембране вызывают падение мембранного потенциала, большую амплитуду набухания митохондрий, разрывы мембраны и митохондриальное разобщение, сопровождающееся падением энергообразования. МРТ играет ключевую роль в процессах гибели клеток, апоптоза и некроза, тогда как угнетение МРТ предупреждает эти патологические явления в митохондриях и клетке. Мы предполагаем, что именно повышение резистентности митохондрий к открытию пор, обусловленное антиоксидантными свойствами бетулина, является фактором, определяющим гепатопротективные свойства этого соединения при АСГ у крыс.

Литература

1. Yip W.W., Burt A.D. Alcoholic liver diseases // *Semin. Diagn. Pathol.* – 2006. – Vol. 23. – P. 149-160.
2. Bailey S.M., Cunnunham C.C. Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcohol liver disease // *Free. Rad. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32. – P. 11-16.
3. Batandier C., Leverve X., Fontaine E. Opening of the mitochondrial permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex I // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 17197-17204.
4. Alavian K.N., Beutner G., Lazrove E., et al. An uncoupling channel within the c-subunit ring of the F1FO ATP synthase is the mitochondrial permeability transition pore // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111. – P. 10580-10585.