

УДК 615.362+577.158(611.36)

©Коллектив авторов

## ВЛИЯНИЕ БЕРБЕРИНА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ

*И.В. Зверинский\*, Н.Г. Зверинская, И.П. Сутько, П.Г. Телегин, А.Г. Шляхтун*

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,  
230030, Республика Беларусь, г. Гродно, БЛК-50; тел.: +375(152)436511;  
эл. почта: zverinsky@tut.by

Исследовали влияние берберина на процессы восстановления ксенобиотикометаболизирующей функции печени в период её компенсаторного роста после 70%-й частичной гепатэктомии. Установлено, что к 8 суткам способность печени метаболизировать чужеродные вещества не восстанавливается. Назначение берберина в дозе 10 мг/кг внутрибрюшинно в течение 6 дней способствовало нормализации как цитохром Р450-зависимых, так и флавиносодержащих монооксигеназ. Предполагается, что кроме цитохрома Р450 в биотрансформации берберина могут участвовать и флавиносодержащие монооксигеназы.

**Ключевые слова:** частичная гепатэктомия, берберин, цитохром Р450, флавиносодержащие монооксигеназы.

**DOI:** 10.18097/PBMC20156103381

### ВВЕДЕНИЕ

Биотрансформация ксенобиотиков представляет собой принципиальный механизм поддержания гомеостаза во время воздействия на организм чужеродных соединений. Метаболизм ксенобиотиков в организме протекает главным образом в печени. Показано, что в период регенерации органа наблюдается снижение его способности метаболизировать чужеродные соединения [1].

Недавно проведенные многочисленные исследования показали, что кроме традиционного желчегонного и антибактериального действия, алкалоид берберин обладает и другими биологическими свойствами; так, он способен нормализовать липидный обмен, снижать интенсивность свободнорадикальных и противовоспалительных процессов [2], обладает противоопухолевым действием [3]. Также установлено, что берберин метаболизируется в печени при участии двух ферментных систем – цитохром Р450-зависимых монооксигеназ и UDP-глюкуронозилтрансфераз с образованием фармакологически неактивных метаболитов [4]. Как показывает анализ литературы, исследований по изучению действия берберина на процессы регенерации печени после частичной гепатэктомии,

включая ферментные системы метаболизма ксенобиотиков, не проводились.

Исходя из вышеизложенного, представлялось практически важным получить ответ на вопрос, как введение берберина в период интенсивной фазы регенерации печени, соединения, обладающего гепатопротекторными свойствами и претерпевающего метаболическую трансформацию в ферментных системах метаболизма ксенобиотиков, а также способного проявлять антимитотическое действие, отразится на процессах восстановления функциональной активности ксенобиотикометаболизирующей функции печени.

### МЕТОДИКА

Эксперимент проведен на 30 крысах-самцах породы Wistar, массой 190-220 г. Крысы были разбиты на две опытные группы, по 10 животных в каждой. Частичную гепатэктомию (удаление 70% массы печени) проводили согласно [5] под эфирным наркозом. Первой группе вводили 0,85% NaCl, второй – берберин гидрохлорид (“Sigma-Aldrich”, США) в дозе 10 мг/кг внутрибрюшинно. Первую инъекцию проводили через 24 ч после операции, в последующем – один раз в день, на протяжении 5 суток. Ложнооперированные животные (n=10)

\* - адресат для переписки

## ВЛИЯНИЕ БЕРБЕРИНА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

служили в качестве контроля, которым вводили физиологический раствор. Через 24 ч после последней инъекции животных декапитировали. Вскрывали брюшную полость, печень *in situ* промывали охлажденным 1,15%-ым раствором KCl. Методом дифференциального центрифугирования выделяли микросомальную и цитозольную фракции печени. Содержание цитохромов P450 и  $b_5$  в микросомальной фракции определяли по методу [6], каталитическую активность цитохром P450-зависимых монооксигеназ оценивали как по скорости О-деалкилирования ряда производных резорудинов [7], так и по N-деметилированию амидопирин и этилморфина [8]. Об активности микросомальных флавиносодержащих монооксигеназ судили по окислению NADPH в присутствии их субстратов: имипрамина (0,1 мМ), N-триметиламина (1 мМ), тиамин (1 мМ) и N,N-диметиланилина (0,1 мМ) [9]. Активность цитозольной и микросомальной глутатион-S-трансфераз определяли по связыванию глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом (ХДНБ) и бромсульфалеином (БСФ) [10]. Содержание белка определяли по методу Лоури [11].

Полученные данные подвергали статистической обработке методом вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми величинами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что на 8-е сутки после частичной гепатэктомии способность печени метаболизировать ксенобиотики снижена. Отмечается падение уровня общего пула цитохромов P450,  $b_5$ , каталитической активности метоксирезорифин-О-деэтилазы (цитохром P450 1A2-зависимая реакция) и этилморфин-N-деметилазы

(цитохром P450 3A-зависимая реакция) на 60, 30, 37 и 38% ( $p < 0,05$ ) соответственно (таблица). Активность флавиносодержащих монооксигеназ также не восстанавливается к 8-м суткам.

Введение берберина в дозе 10 мг/кг внутрибрюшинно в течение 6 дней интенсифицировало процессы восстановления микросомальных монооксигеназ. Так, содержание цитохромов P450 и  $b_5$ , активность метоксирезорифин-О-деэтилазы, этилморфин-N-деметилазы и флавиносодержащих монооксигеназ (кроме окисления имипрамина) были на уровне контрольной группы (таблица).

Назначение берберина в период регенерации печени не оказывало влияния на восстановление каталитической активности цитозольных глутатион-S-трансфераз.

Снижение содержания и активности ферментов метаболизма ксенобиотиков в период регенерации печени в первую очередь связано с кардинальной перестройкой экспрессии генов и метаболическими процессами, направленными на восстановление массы печени [12].

Одним из важнейших свойств ферментных систем метаболизма ксенобиотиков является их способность к индукции. Феномен индукции является важнейшей составляющей адаптационного ответа на чужеродные соединения, попадающие в клетку, что приводит к усилению детоксикационной функции организма с последующим выведением ксенобиотика.

Следует отметить, что во время регенерации печени изменяется не только уровень ферментов и их каталитические свойства, но и способность к индукции; так, было установлено, что гепатоциты, изолированные из регенерирующей печени, превосходили гепатоциты ложнопериоперированных животных в несколько раз по способности "отвечать" на введение ксенобиотиков [13].

Таблица. Содержание и активность цитохрома P450, флавиносодержащих монооксигеназ и глутатион-S-трансфераз печени крыс на 8-е сутки после частичной гепатэктомии без и на фоне введения берберина (10 мг/кг)

Показатели	ЛО	Ч Г/Э	Ч Г/Э + берберин
Цитохром P450, нмоль/мг белка	0,62±0,11	0,25±0,05*	0,75±0,09&
Цитохром $b_5$ , нмоль/мг белка	0,36±0,02	0,26±0,034*	0,39±0,02&
Этоксирезорифин-О-деэтилаза, пмоль резорифина/мин/мг белка	39,79±4,79	28,91±6,27	46,64±6,89
Метоксирезорифин-О-деэтилаза, пмоль резорифина/мин /мг белка	40,52±5,99	12,36±2,62*	36,23±4,66&
Этилморфин-N-деметилаза, нмоль/мин/мг белка	3,41±0,53	2,13±0,20*	3,22±0,26&
Амидопирин-N-деметилаза, нмоль/мин/мг белка	1,49±0,15	1,51±0,08	1,29±0,06
Окисление имипрамина, нмоль НАДФН/мин /мг белка	1,65±0,16	1,11±0,08*	1,26±0,07*
Окисление N-триметиламина, нмоль НАДФН/мин/мг белка	1,74±0,14	1,29±0,07*	1,49±0,16
Окисление диметиланилина, нмоль НАДФН/мин/мг белка	1,53±0,11	1,19±0,09*	1,31±0,12
Окисление тиамин, нмоль НАДФН/мин /мг белка	1,41±0,13	1,10±0,06*	1,21±0,11
Глутатион-S-трансфераза, мкмоль ХДНБ/мин/мг белка (цитозоль)	0,44±0,03	0,31±0,04*	0,30±0,03*
Глутатион-S-трансфераза, нмоль БСФ/мин/мг белка (цитозоль)	4,67±0,18	3,52±0,39*	2,88±0,34*
Глутатион-S-трансфераза, нмоль ХДНБ/мин/мг белка (микросомы)	40,19±4,64	34,40±3,77	37,20±3,20

Примечание. ХДНБ - 1-хлор-2,4-динитробензол, ЛО - ложная операция, Ч Г/Э - частичная гепатэктомия, БСЛ - бромсульфалеин. \* -  $p < 0,05$  к ложной операции, & -  $p < 0,05$  к частичной гепатэктомии.

Прогресс в понимании молекулярных механизмов индукции ферментов метаболизма ксенобиотиков был сделан после открытия двух рецепторов – прегнан Х-рецептора (PXR) и конститутивного андростанового рецептора (CAR). Как было установлено в многочисленных исследованиях, именно через эти рецепторы в большинстве случаев реализуется ответ организма на поступление ксенобиотиков [14]. В тоже время, CAR и PXR имеют общие лиганды и с другими факторами транскрипции, в частности, с печёночным Х-рецептором (LXR) и рецептором активатора пролиферации пероксисом альфа (PPAR  $\alpha$ ), а гены CYP2B, CYP2C, CYP3A и CYP2H1 помимо CAR и PXR имеют энхансеры как для рецептора витамина D (VDR), так и для рецепторов тиреоидных гормонов и LXR [15].

Как показывают последние исследования, берберин способен изменять ряд клеточных транскрипционных программ через взаимодействие с ядерными LXR и PPAR  $\alpha$  рецепторами [2].

Мы полагаем, что активация цитохром P450-зависимых и флавинодержущих монооксигеназ в период регенерации печени реализуется на уровне последовательной активации ряда ксеносенсоров алкалоидом и в меньшей степени на посттрансляционном уровне, в пользу этого свидетельствует факт, что наряду с активацией ферментативной активности монооксигеназ наблюдается значительный рост и общего пула цитохрома P450 (таблица).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Nagayoshi S., Kawashita Y., Eguchi S., Kamohara Y., Takatsuki M., Miyamoto S., Mochizuki S., Soyama A., Tokai H., Hidaka M., Tajima Y., Kanematsu T. (2008) *World J. Gastroenterol.*, **41**, 6355-6359.
2. Liu X., Li G., Zhu H., Huang L., Liu Y., Ma C., Qin C. (2010) *Endocrine J.*, **57**, 881-893.
3. Sun Y., Xun K., Wang Y., Chen X. (2009) *Anticancer Drugs*, **20**, 757-769.
4. Liu Y., Hao H., Xie H., Lv H., Liu C., Wang G. (2009) *J. Pharm. Sci.*, **98**, 4391-4401.
5. Higgins G.M., Anderson R.M. (1931) *Arch. Pathol.*, **12** (2), 186-202.
6. Omura T., Sato R., Cooper D.Y., Rosenthal O., Estabrook R.W. (1965) *Fed. Proc.*, **24**, 1181-1187.
7. Burke M.D., Prough R.A., Mayer R.T. (1977) *Drug Metab. Dispos.*, **5** (1), 1-8.
8. Nash T. (1953) *Biochem. J.*, **55**, 416-421.
9. Мельниченко Н.Г. (2007) Весті НАН Беларусі. Сер. мед. нав., **4**, 86-92.
10. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. (1974) *J. Biol. Chem.*, **22**, 130-139.
11. Lowry O.N., Rosebrough H.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
12. Michalopoulos G.K. (2007) *J. Cell Physiol*, **213**, 286-300.
13. Tamasi V., Riedl Z., Dobozy O., Falus A., Vereczkey L., Monostory K. (2004) *Pol. J. Pharmacol.*, **56** (1), 113-119.
14. Handschin C., Meyer U.A. (2003) *Pharmacol. Rev.*, **5**, 649-672.
15. Saito K., Kobayashi K., Mizuno Y., Fukuchi Y., Furihata T., Chiba K. (2010) *Drug Metabol. Pharmacokinet.*, **25** (1), 108-111.

Поступила: 05. 02. 2014.

## EFFECTS OF BERBERINE ON THE RECOVERY OF RAT LIVER XENOBIOTIC-METABOLIZING ENZYMES AFTER PARTIAL HEPATECTOMY

*I.V. Zverinsky, N.G. Zverinskaya, I.P. Sutsko, P.G. Telegin, A.G. Shlyahatun*

Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds NASB,  
BLK-50, Grodno, 230030, Republic of Belarus; tel.: +375 (152) 436511; e-mail: zverinsky@tut.by

We have studied the effect of berberine on the recovery processes of liver xenobiotic-metabolizing function during its compensatory growth after 70% partial hepatectomy. It was found the hepatic ability to metabolize foreign substances are not restored up to day 8. Administration of berberine (10 mg/kg intraperitoneally) for 6 days led to normalization of both cytochrome P450-dependent and flavin-containing monooxygenases. It is suggested that in the biotransformation of berberine involved not only cytochrome P450, but also flavin-containing monooxygenases.

**Key words:** partial hepatectomy, berberine, cytochrome P450, flavin-containing monooxygenases.