

УДК 616.1/.4

Т.Е. Променашева, Л.С. Колесниченко, Н.М. Козлова

## РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

*За последние годы неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП) трансформировалась из редко встречаемой нозологической формы в распространенное заболевание наряду с алкогольной болезнью печени и вирусными гепатитами. Во всем мире отмечается рост числа пациентов с подобным диагнозом. Несмотря на это, дискуссионным остается вопрос патогенеза неалкогольной жировой болезни печени. Оксидативному стрессу отводится главная роль в развитии гепатита на фоне жировой дистрофии печени. Система глутатиона является основным защитником клеток от оксидативного стресса, что может быть использовано в формировании новых подходов к лечению неалкогольной жировой болезни печени.*

**Ключевые слова:** неалкогольная жировая болезнь печени, стеатоз печени, стеатогепатит, оксидативный стресс, глутатион

## ROLE OF OXIDATIVE STRESS AND GLUTATHIONE SYSTEM IN THE PATHOGENESIS OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

T.E. Promenasheva, L.S. Kolesnichenko, N.M. Kozlova

Irkutsk State Medical University, Irkutsk

*In recent years nonalcoholic fatty liver disease transformed from uncommon clinical entity into common ailment along with alcoholic liver disease and viral hepatitis. Increase in the number of patients with nonalcoholic fatty liver disease is registered all over the world. Nevertheless the problem of pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease is still discussable. Oxidative stress is of first importance in the development of hepatitis on the background of hepatic steatosis. Glutathione system is the main defender of cells from oxidative stress that can be used in the formation of new approaches to the treatment of nonalcoholic fatty liver disease.*

**Key words:** nonalcoholic fatty liver disease, hepatic steatosis, steatohepatitis, oxidative stress, glutathione

### ВВЕДЕНИЕ

В связи с эпидемией ожирения во всем мире отмечается рост числа пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (НЖБП). В европейских странах неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) диагностируют почти у 11 % пациентов путем проведения биопсии печени в связи с повышением активности трансаминаз. Распространенность НАСГ составляет 19 % при повышении массы тела, при нормальной массе – 2,7 % [7, 20]. Чаще болеют женщины в возрасте 50 лет, соотношение мужчин и женщин составляет 1 : 3 [6]. Неалкогольный стеатогепатит в ближайшие десятилетия будет являться основной причиной заболеваний печени [25].

### СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В НОРМЕ И ПРИ НЖБП

В норме антиоксидантная система нашего организма представлена различными ферментами и низкомолекулярными антиоксидантами. Активные формы кислорода постоянно образуются в аэробных условиях при различных метаболических реакциях, но баланс в живых организмах обеспечивается за счет их дезактивации антиоксидантами [4]. В случае сбоя в работе этих систем происходит накопление окисленных форм и развивается окислительный стресс – одна из главных причин формирования многих патологических процессов в организме, в том числе НЖБП.

Выделяют несколько основных активных форм кислорода:

- супероксидный анион-радикал ( $O_2^{\cdot-}$ );
- перекись водорода ( $H_2O_2$ ) и органические перекиси (ROOH);
- гидроксильные и пероксильные радикалы ( $HO\cdot$ ;  $HO_2\cdot$ ;  $RO_2\cdot$ );
- синглетные формы кислорода ( $^1O_2$ ) и ионы  $HO_2^-$  [5, 9].

Те активные формы кислорода, которые имеют несвязанный электрон на внешней орбитали, обладают повышенной реакционной способностью. Несмотря на то, что большинство свободных радикалов являются цитотоксическими, они играют важную роль в функционировании нейтрофилов и макрофагов, синтезе эйкозаноидов, редокс-регуляции экспрессии генов, процессах метаболизма, воспаления и иммунитета.

Одним из мощнейших поставщиков свободных радикалов являются гепатоциты, а также лейкоциты и тромбоциты [3]. Чрезмерная активация реакций перекисного окисления провоцирует развитие многих патологических процессов (НЖБП, сахарный диабет, нарушение мозгового кровообращения, заболевания опорно-двигательной системы, болезни Паркинсона и Альцгеймера и многие другие).

Основным провоцирующим фактором в развитии окислительного стресса является нарушение

баланса между антиоксидантной и прооксидантной системами. Первоначально активация активных форм кислорода при различных патологических состояниях уникальна в каждом отдельном случае, но в дальнейшем процессы окислительного стресса теряют свою специфичность и становятся унифицированными для всех состояний. Свободные радикалы играют большую роль в повреждении организма, начиная от молекул и заканчивая органами и тканями в целом. Во время свободнорадикального окисления появляются биологические молекулы – маркеры окислительного стресса.

Основным защитником организма от бесконтрольного увеличения свободных радикалов и подавления окисления липидов является система глутатиона, которая включает в себя глутатион и ферменты его метаболизма: каталазу, глутатионредуктазу (ГР), глутатионтрансферазу (ГТ), глутатионпероксидазу (ГПО). Данная система защищает в естественных условиях по следующим направлениям:

- супероксиддисмутаза восстанавливает супероксид;
- ГПО и каталаза восстанавливают  $H_2O_2$ ;
- ГПО и ГТ восстанавливают органические гидропероксиды (ROOH) свободных жирных кислот, нуклеотидов, нуклеиновых кислот;
- ГТ, глиоксалаза и формальдегиддегидрогеназа обезвреживают вторичные продукты пероксидации и другие окисленные соединения.

Таким образом, система глутатиона является основной антиоксидантной системой организма в целом.

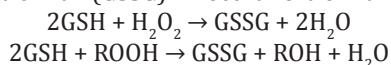
#### СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА. ГЛУТАТИОН

Глутатион (GSH) (гамма-глутамил-цистеинил-глицин) – трипептид, состоящий из глутаминовой кислоты, цистеина, глицина. Глутатион является важным восстановителем клетки, так как не только защищает клетку от свободных радикалов, но и определяет редокс-статус внутриклеточной среды в целом [23].

В клетке основная масса GSH находится в цитозоле [2], в митохондриях – 9–15 % [18]. Глутатион выполняет ряд фундаментальных функций [17]:

- 1) является антиоксидантом;
- 2) поддерживает в восстановленном состоянии SH ферментов других белков и мембран;
- 3) участвует в редокс-регуляции;
- 4) участвует в биосинтезе ДНК, пролиферации;
- 5) участвует в синтезе лейкотриенов;
- 6) участвует в обмене простагландинов;
- 7) участвует в метаболизме ксенобиотиков;
- 8) повышает резистентность клеток к негативным воздействиям;
- 9) связывает тяжелые металлы;
- 10) содержит резерв цистеина.

Глутатион присутствует в организме в двух формах: окисленная (GSSG) и восстановленная (GSH).



Именно в восстановленной форме глутатион оказывает свою основную защитную функцию за счет группы SH. Концентрация восстановленного глутатиона в норме в 20–100 раз выше, чем окисленного [11, 21].

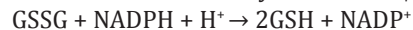
Большая часть глутатиона (около 90 %) синтезируется в печени и далее транспортируется в другие органы и ткани [10]. При ингибировании синтеза глутатиона в печени и организме в целом уменьшается концентрация глутатиона в плазме крови. В печени обнаружено наличие двух пулов глутатиона – лабильного и стабильного. Синтезируется GSH в две стадии с участием гамма-глутамилцистеин синтетазы для первой реакции и глутатионсинтетазы – для второй [2].

- 1) глутамат + цистеин  $\rightarrow$   $\gamma$ -глутамилцистеин +  $H_2O$ ;
- 2)  $\gamma$ -глутамилцистеин + глицин  $\rightarrow$  глутатион +  $H_2O$ .

Обе реакции осуществляются при участии АТФ и ионов  $Mg^{++}$ .

Доступность цистеина в печени зависит от присутствия его в пище, степени активности переноса трех аминокислот через мембраны и нормального функционирования цистатионинового пути [18]. В случае подавления транспорта цистеина в клетку происходит снижение концентрации глутатиона в клетке [14].

Вторым важным источником GSH является ГР, которая восстанавливает GSSG с участием НАДФН +  $H^+$ .



С помощью этой реакции поддерживается высокий внутриклеточный уровень GSH/GSSG. ГР является ключевым ферментом поддержания тиолового редокс-статуса клетки [2].

Изменения в организме на клеточном уровне, приводящие к нарушению синтеза глутатиона, вызывают ряд серьезных заболеваний и патологических состояний: атеросклероз, сахарный диабет, неалкогольная жировая болезнь печени, инфаркт миокарда, болезни нервной системы [15, 19].

Срыв физиологической антиоксидантной системы характеризуется нарушением в работе ферментов и накоплением продуктов перекисного окисления липидов в клетке и органах [1].

Патогенез стеатоза печени и неалкогольного стеатогепатита недостаточно изучен. Принято считать, что стеатоз печени является ступенью, предшествующей развитию стеатогепатита. Существующая модель патогенеза НАСГ – теория «двух ударов» – объединяет известные факторы риска стеатогепатита. При нарастании ожирения увеличивается поступление в печень свободных жирных кислот (СЖК) и развивается стеатоз печени – теория «первичного удара». Во время этого процесса происходят реакции окисления СЖК и образуются продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и реактивные формы кислорода (РФК) – оксидативный стресс – теория «второго удара» [8].

Роль оксидативного стресса в патогенезе неалкогольного стеатогепатита была рассмотрена А.Р. Rolo, J.S. Teodoro, С.М. Palmeira [22]. Накопление липидов в гепатоцитах уменьшает работу электроннотранспортной цепи митохондрий и стимулирует пероксисомальный и микросомальный пути оксидации при ожирении.

Оксидативный стресс также является провокатором выделения воспалительных цитокинов и, как следствие, развития воспаления и процессов фиброза [22]. Результаты этого исследования позволяют подтвердить известное мнение о том, что неалкогольный

стеатогепатит может быть результатом финальной стадии болезни печени.

S. Uysal et al. [24] были изучены уровень воспалительных цитокинов, метаболизм железа и маркеры оксидативного стресса у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом. Было показано, что железо, депонированное в печени, оксидативный стресс и воспалительные цитокины взаимосвязаны. Поэтому уровень ферритина сыворотки крови, малоновый диальдегид, интерлейкины 6 и 8, туморнекротизирующий фактор альфа могут являться индикаторами активности и прогрессирования неалкогольного стеатогепатита.

В настоящее время существуют убедительные доказательства о вовлечении системы глутатиона в реакции воспаления и иммунного ответа. Глутатион реализует свои защитные функции, в том числе защиту клеток от оксидативного стресса, через восстановленную форму. В последние 10–15 лет получено много новых данных, относящихся к системе глутатиона в эритроцитах и сыворотке крови. Была обнаружена серия новых ферментов, вовлеченных в метаболизм глутатиона. Система глутатиона исследуется в патогенезе различных заболеваний и в ближайшее время может быть потенциально использована в клинической практике [17].

R.N. Hardwick et al. [12] изучили многообразие реакций ферментов антиоксидантной системы (хинон-оксидоредуктаза (NQO1), глутатионтрансфераза (GST) и глутамат-цистеинлигаза) при прогрессировании НЖБП. Было предположено, что активация Nrf2 происходит в ответ на прогрессирование заболевания вследствие индукции специфических Nrf2-мишеней, в то время как функционирование различных специфических антиоксидантных ферментов ослабляется с прогрессированием НЖБП. Уровень мРНК глутатионтрансферазы (изоформы A1, A2, A4, M3, P1) увеличивается с прогрессированием НЖБП. Активность изоферментов A и P глутатионтрансферазы увеличивается с прогрессированием заболевания, тогда как активность глутатионтрансферазы M имеет тенденцию к снижению. Таким образом, разные изоферменты ГТ по-разному изменяются при прогрессировании НЖБП. Синтез глутатиона не связан с прогрессированием НЖБП, в то же время восстановленный глутатион, окислительно-восстановительный коэффициент связан с тяжестью заболевания, определяет наличие окислительного стресса и снижение глутатиона по мере прогрессирования НЖБП. Концентрация малонового диальдегида повышалась по мере прогрессирования заболевания [12].

Исследователями из Ирана M. Hashemi, E. Eskandari-Nasab и A. Fazaeli [13] изучена взаимосвязь генного полиморфизма глутатион-S-трансферазы (GSTM1, GSTT1, GSTR1) и НЖБП. Было показано, что генный полиморфизм GSTM1 и GSTT1 взаимосвязан с НЖБП и может быть использован для определения риска развития НЖБП. Взаимосвязи GSTT1 с НЖБП выявлено не было.

Изучался профиль плазмы при стеатозе и стеатогепатите с использованием крупного метаболического анализа, для того чтобы определить специфические маркеры заболевания и выявить потенциальные биомаркеры [16]. Метаболический анализ плазмы

обнаружил изменения солей желчи и биохимических показателей, связанных с глутатионом, у пациентов с НЖБП. А именно анализ показал заметное повышение уровня гликохолат (соль или эфир гликохолевой кислоты), таурохолат и гликогенодиоксидохолат у пациентов с НЖБП. Концентрация длинноцепочечных жирных кислот при неалкогольном стеатогепатите была ниже, концентрация свободного карнитина, бутирилкарнитина и метилбутирилкарнитина – выше. Некоторые глутамилдипептиды повышались, в то время как цистеин-глутатион снижался при НСГ и стеатозе. Другие изменения включали в себя повышение цепи АК, фосфохолина, карбогидратов (глюкоза, манноза), лактат, пируват и некоторые неизвестные метаболиты. Статистический анализ определил панель биомаркеров, значимых для людей с НЖБП. Эти биомаркеры потенциально могут использоваться для того, чтобы отследить ответ на терапевтическое вмешательство.

Несмотря на большое количество исследований, проведенных в этой области, вопрос о патогенезе неалкогольной жировой болезни печени остается недостаточно изученным. Учитывая высокую распространенность данного заболевания и возможные осложнения, необходимо углубленное изучение процессов патогенеза с целью совершенствования тактики лечения неалкогольной жировой болезни печени.

#### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Балаболкин М.И., Креминская В.М., Клебанова Е.М. Роль дисфункции эндотелия и окислительного стресса в механизмах развития ангиопатий при сахарном диабете 2-го типа // Кардиология. – 2004. – № 7. – С. 90–97.
2. Balabolkin M.I., Kreminskaya V.M., Klebanova E.M. Role of endothelium dysfunction and oxidative stress in the mechanisms of development of angiopathy at diabetes mellitus II // Kardiologija. – 2004. – N 7. – P. 90–97. (in Russian)
3. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биологической химии. – 1990. – Т. 31. – С. 157–179.
4. Kulinskiy V.I., Kolesnichenko L.S. Glutathione metabolism // Uspеhi biologicheskoy himii. – 1990. – Vol. 31. – P. 157–179. (in Russian)
5. Ланкин В.З., Бондарь Т.Н., Тихазе А.К. Влияние свободных жирных кислот на липопероксидазную активность антиоксидантных ферментов – Se-содержащей глутатионпероксидазы и неселеновой глутатион-S-трансферазы // Докл. АН СССР. – 1997. – Т. 357, № 5. – С. 828–831.
6. Lankin V.Z., Bondar T.N., Tikhadze A.K. Influence of free fatty acids on lipid peroxidation activity of antioxidant enzymes – Se-containing glutathione peroxidase and non-selenic glutathione S-transferase // Dokl. AN SSSR. – 1997. – Vol. 357, N 5. – P. 828–831. (in Russian)
7. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Сафина А.Ф. Окислительный стресс при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда // Успехи соврем. биол. – 2006. – Т. 117, № 3. – С. 362–373.
8. Menshikova E.B., Zenkov N.K., Safina A.F. Oxidative stress at ischemic and reperfusion myocardial injury

// *Uspehi sovrem. biol.* – 2006. – Vol. 117, N 3. – P. 362–373. (in Russian)

5. Николаев С.М., Шантанова Л.Н., Мондодоев А.Г. Свободнорадикальное окисление и скрининг антиоксидантов, адаптогенов с использованием биотест-систем // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН.* – 2010. – № 2. – С. 196–200.

Nikolaev S.M., Shantanova L.N., Mondodoev A.G. Lipid peroxidation and screening of antioxidants, adaptogens using biotest-systems // *Vjnl. VSNC SO RAMN.* – 2010. – N 2. – P. 196–200. (in Russian)

6. Павлов Ч., Бакулин И. Неалкогольный стеатогепатит: клинические перспективы и принципы лечения // *Врач.* – 2007. – № 10. – С. 24–28.

Pavlov Ch., Bakulin I. Nonalcoholic steatohepatitis: clinical prospects and principles of treatment // *Vrach.* – 2007. – N 10. – P. 24–28. (in Russian)

7. Скрипник И.М., Мельник Т.В., Потязенко М.М. Клінічна гепатологія. – Полтава: Дивосвіт, 2007. – 425 с. Skripnik I.M., Melnik T.V., Potyazhenko M.M. Clinical hepatology. – Poltava: Divosvit, 2007. – 425 p. (in Russian)

8. Хазанов А.И. Возможности прогрессирования алкогольного и неалкогольного стеатогепатита в цирроз печени // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктологии.* – 2005. – Т. 15, № 2. – С. 26–32.

Khazanov A.I. Opportunities of transformation of alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis into hepatic cirrhosis // *Ros. zhurn. gastrojenterol., gepatol. i koloproktologii.* – 2005. – Vol. 15, N 2. – P. 26–32. (in Russian)

9. Cadenas E., Davies K.J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 29, N 3–4. – P. 222–230.

10. Chen Y., Yang Y., Miller M.L. Hepatocyte-specific Gclc deletion leads to rapid onset of steatosis with mitochondrial injury and liver failure // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45, N 5. – P. 1118–1128.

11. Comhair S.A., Erzurum S.C. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2005. – Vol. 7, N 1–2. – P. 72–79.

12. Hardwick R.N., Fisher C.D., Canet M.J., Lake A.D. et al. Diversity in antioxidant response enzymes in progressive stages of human nonalcoholic fatty liver disease // *Drug Metab. Dispos.* – 2010. – Vol. 38, N 12. – P. 301–2293.

13. Hashemi M., Eskandari-Nasab E. Fazaeli A., Bahari A. et al. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTT1, GSTM1 and GSTP1) and susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in Zahedan, Southeast Iran // *DNA Cell Biol.* – 2012. – Vol. 31, N 5. – P. 7–672.

14. Higuchi Y. Chromosomal DNA fragmentation in apoptosis and necrosis induced by oxidative stress // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 8, N 66. – P. 1527–1535.

15. Huang Z.Z. et al. Mechanism and significance of increased glutathione level in human hepatocellular carcinoma and liver regeneration // *FASEB J.* – 2001. – Vol. 15, N 1. – P. 19–21.

16. Kalhan S.C., Guo L., Edmison J., Dasarathy S. et al. Plasma metabolomic profile in non-alcoholic fatty liver disease // *Metabolism.* – 2011. – Vol. 60, N 3. – P. 404–413.

17. Kulinsky V.I., Kolesnichenko L.S. The glutathione system. II. Other enzymes, thiol-disulfide metabolism, inflammation and immunity, functions // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series Biomedical Chemistry.* – 2009. – Vol. 3, N 3. – P. 211–220.

18. Lu S.C. Regulation of hepatic glutathione synthesis: currents and controversies // *Faseb. J.* – 1999. – Vol. 13. – P. 1169–1181.

19. Montironi R. et al. Expression of pi-class glutathione S-transferase: two populations of high grade prostatic intraepithelial neoplasia with different relations to carcinoma // *Mol. Pathol.* – 2000. – Vol. 53, N 3. – P. 122–128.

20. Pinto H.C., Baptista A., Camilo M.E. Nonalcoholic steatohepatitis: clinico-pathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients // *Dig. Dis. Sci.* – 2006. – Vol. 41. – P. 172–179.

21. Rahman I., Adcock I.M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 28, N 1. – P. 219–242.

22. Rolo A.P., Teodoro J.S., Palmeira C.M. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 1, N 1. – P. 59–69.

23. Struznka L., Chalimoniuk M., Sulkowski G. The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity // *Toxicology.* – 2005. – Vol. 212, N 2–3. – P. 185–194.

24. Uysal S., Armutcu F., Aydogan T., Akin K. et al. Some inflammatory cytokine levels, iron metabolism and oxidant stress markers in subjects with nonalcoholic steatohepatitis // *Clin. Biochem.* – 2011. – Vol. 44, N 17–18. – P. 9–1375.

25. Vernon G., Baranova A., Younossi Z.M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 34, N 3. – P. 85–274.

#### Сведения об авторах

**Променашева Татьяна Евгеньевна** – аспирант кафедры факультетской терапии Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; e-mail: t.promenasheva@mail.ru)

**Колесниченко Лариса Станиславовна** – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры химии и биохимии Иркутского государственного медицинского университета

**Козлова Наталия Михайловна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой факультетской терапии Иркутского государственного медицинского университета 664003,

#### Information about the authors

**Promenasheva Tatyana Evgenjevna** – Postgraduate of the Department of Intermediate Level Therapy of Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str., 1, Irkutsk, 664003; e-mail: t.promenasheva@mail.ru)

**Kolesnichenko Larisa Stanislavovna** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Chemistry and Biochemistry of Irkutsk State Medical University

**Kozlova Natalya Mikhaylovna** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Intermediate Level Therapy of Irkutsk State Medical University