

УДК 616.379:616.36:612.416

К.В. Соколова, И.Ф. Гетте, Д.А. Туканов, И.Г. Данилова

## ОСОБЕННОСТИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЁНКЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения  
Российской академии наук, г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Резюме.** Увеличение скорости образования активных форм кислорода, вызванное хронической гипергликемией, приводит к дисбалансу в системе перекисного окисления липидов-антиоксидантная защита (ПОЛ-АОЗ): при усилении процессов ПОЛ нейтрализующей их активности антиоксидантной системы в какой-то момент становится недостаточно, что вызывает структурно-функциональные повреждения клеточных мембран, и, в конечном итоге, ведёт к повреждению отдельных клеток и изменению функций ткани в целом. Для предотвращения и лечения осложнений сахарного диабета 2 типа (СД2) важно понимать особенности развития оксидативного стресса в разных органах. В работе представлены данные по содержанию компонентов системы антиоксидантной защиты в тканях печени и селезёнки при развитии экспериментального СД2 у крыс. **Цель исследования:** сравнить выраженность оксидативного стресса в печени и селезенке крыс с экспериментальным СД2. **Материалы и методы.** СД2 был индуцирован у самцов крыс внутрибрюшинным введением 65 мг/кг стрептозотоцина с предварительным введением 110 мг/кг никотинамида. Биохимически определено содержание малонового диальдегида (МДА) и восстановленного глутатиона (GSH), активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в ткани печени и селезенки, митотический индекс клеток печени подсчитан на срезах ткани, окрашенных гематоксилином и эозином, количество лейкоцитов определено на гематологическом анализаторе. **Результаты.** У интактных крыс в печени активность СОД и каталазы выше, а уровень МДА меньше, чем в селезенке. В печени моделирование СД2 сопровождалось увеличением количества GSH и МДА и снижением активности СОД и каталазы, но, несмотря на снижение, активность ферментов значительно превышала таковую в селезенке, митотический индекс клеток печени увеличился; в селезенке содержание GSH снизилось, а уровень МДА вырос в большей степени, чем в печени. Полученные данные свидетельствуют о том, что при развитии экспериментального СД2 селезёнка подвержена оксидативному стрессу в большей степени, чем печень.

**Ключевые слова:** оксидативный стресс, антиоксидантная защита, сахарный диабет 2 типа, печень, селезенка

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Туканов Данил Александрович

danil\_tukanov@mail.ru

Дата поступления: 31.08.2024

Образец цитирования: Соколова К.В., Гетте И.Ф., Туканов Д.А., Данилова И.Г. Особенности оксидативного стресса в печени и селезёнке крыс при экспериментальном сахарном диабете 2 типа. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 5, с. 565–573, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-565-573

### Введение

Исследование механизмов развития социально значимого заболевания сахарного диабета и его осложнений позволяет выявить новые мишени для патогенетически обоснованного лечения, одним из

направлений которого является воздействие на регуляторы экспрессии антиоксидантных ферментов и провоспалительных факторов [1, 2, 3]. Оксидативный стресс играет значительную роль в формировании и прогрессировании сахарного диабета как первого (СД1), так и второго (СД2) типа [4, 5, 6]. Оксидативный стресс развивается в результате недостаточности антиоксидантной защиты (АОЗ) на фоне усиливающихся неферментативных реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4]. ПОЛ инициируется активными формами кислорода, источниками которых являются реакции окисления глюкозы при гипергликемии, активация индуцибельной NO-синтазы, NAD-оксидазы и NADP-оксидазы в лейкоцитах; субстратами для ПОЛ выступают свободные жирные кислоты в крови [4, 5, 6].

В эксперименте и клинике показано накопление таких продуктов ПОЛ, как диеновые конъюгаты, гидроперекиси, ТБК-реагирующие продукты, в том числе малоновый диальдегид (МДА), в крови и тканях [4, 7]. Активность ферментов АОЗ, таких как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и глутатионпероксидаза, может претерпевать фазные изменения: увеличение активности в начальной стадии заболевания и снижение активности при более длительной или более выраженной патологии [8]. В первом случае эти изменения свидетельствуют о компенсированном оксидативном стрессе, а во второй ситуации – о декомпенсированном состоянии.

Вторичные продукты ПОЛ – МДА и другие альдегиды – вступают в неферментативные реакции с аминокислотами нуклеотидов, аминокислот и белков, нарушая тем самым нативную структуру последних [5]. Карбонилированные белки, то есть измененные в результате присоединения продуктов ПОЛ, повсеместно становятся мишенями для аутоиммунных реакций. Липопротеины низкой плотности, содержащие подобные белки и продукты перекисного окисления липидов, быстрее фагоцитируются макрофагами интимы кровеносных сосудов, что ускоряет образование атеросклеротических бляшек [9]. Изменение структуры рецепторов в результате карбонилирования и гликирования может приводить к нарушению регуляции на всех уровнях и в различных органах.

К известным хроническим осложнениям СД2 относятся стеатоз печени [10] и снижение иммунорезистентности [11], связанное с дистрофическими изменениями в органах иммунной системы [12], при этом в обоих случаях значительную роль играет дисбаланс в реакциях ПОЛ-АОЗ. Показатели ПОЛ-АОЗ чаще всего определяют в крови, реже в печени и почках экспериментальных животных, еще реже в органах иммунной системы [1, 2, 6, 7]. Интенсивность оксидативного стресса в разных органах может быть различна, но сравнение показателей ПОЛ-АОЗ в разных органах можно встретить только в единичных работах [6, 7].

**Цель работы** – сравнение выраженности оксидативного стресса в печени и селезенке крыс с экспериментальным СД2.

## Материалы и методы

### *Экспериментальные животные*

Эксперимент проведен на 20 крысах-самцах Wistar массой  $270 \pm 15$  г, рождённых в виварии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН). Крысы содержались в стандартных лабораторных условиях при температуре воздуха  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  выше нуля, естественном световом режиме и свободном доступе к воде и корму для грызунов «DeltaFeeds С-19» (БиоПро, Новосибирск, РФ), их возраст на начало эксперимента составлял 3-3,5 месяца. Проведение эксперимента соответствовало принципам, прописанным в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 года о защите животных, используемых в научных целях. Протоколы экспериментов на животных были одобрены этическим комитетом Института иммунологии и физиологии УрО РАН (протокол № 10/23 от 09.10.2023).

### *Протокол эксперимента*

Для создания модели СД2 использовали метод, описанный в [13], в авторской модификации: раствор никотинамида (MilliporeSigma, США) в воде для инъекций вводили внутривентриально из расчета 110 мг/кг массы тела крысы, через 15 минут внутривентриально вводили раствор стрептозотоцина (MilliporeSigma, США) в 0,1М цитратном буфере (рН 4,5) в дозе 65 мг/кг. Для контроля использовали интактных животных (n=10). Через 28 суток от начала эксперимента у крыс брали кровь из хвостовой вены, после чего их выводили из эксперимента ингаляционной передозировкой изофлурана

(Laboratories Karizoo, S.A., Испания), предварённой внутримышечным введением 0,1 мг/кг ксилазина (Alfasan, Woerden, Нидерланды) и 5 мг/кг золетила-100 (Virbac, Carros, Франция), и извлекали печень и селезенку.

### *Исследуемые показатели*

Глюкоза и HbA1c в крови были определены спектрофотометрически с использованием готовых наборов реагентов. Концентрацию глюкозы определяли в плазме крови глюкозооксидазным методом (Витал Диагностикс, Российская Федерация), Содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) в цельной крови определяли методом аффинной гель-хроматографии с использованием набора ГЛИКОГЕМОТЕСТ («ЭЛТА», Российская Федерация). Уровень инсулина в плазме крови измеряли методом иммуноферментного анализа с помощью набора Rat Insulin ELISA (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) и с использованием автоматического иммуноферментного анализатора LAZURITE AUTOMATED ELISA SYSTEM (Dynex Technologies Inc., США). Инсулинорезистентность оценивали расчетом индекса НОМА-IR по формуле на основании показателей, измеренных натощак:  $\text{НОМА-IR} = \text{инсулин (мкМЕд/мл)} \times \text{глюкоза (ммоль/л)} / 22,5$  [14].

Для определения показателей ПОЛ-АОЗ образцы ткани печени и селезенки гомогенизировали в 0,1М фосфатном буфере в соотношении 400 мг ткани на 4,0 мл буфера. Гомогенаты ткани замораживали при 70°C ниже нуля и после размораживания центрифугировали при 1000g в течение 10 минут. В гомогенатах ткани печени и селезенки определяли активность СОД (КФ 1.15.1.1.) и каталазы (КФ 1.11.1.6.), содержание малонового диальдегида (МДА) и содержание тиолов, а именно восстановленного глутатиона (GSH). Используемые биохимические методики описаны в [8].

Для определения активности ферментов гомогенаты тканей разводили в 10 раз 0,9% раствором натрия хлорида. Активность СОД измеряли, подсчитывая торможение образования диформаза из нитросинего тетразолия в присутствии рибофлавина и метионина. Смесь реактивов и гомогената облучали в течение 10 минут светом от лампы накаливания мощностью 9,2 ватт. Оптическую плотность диформаза определяли при длине волны 560 нм. Одна условная единица активности СОД соответствует 50% торможения образования диформаза. Активность каталазы определяли по убыли количества пероксида водорода после инкубации в течение 10 минут при 37°C выше нуля и остановки реакции добавлением аммония молибденовокислого. Концентрацию комплекса пероксида водорода с молибденовокислым аммонием подсчитывали по оптической плотности, измеренной при длине волны 410 нм, с использованием молярного коэффициента поглощения  $\varepsilon = 22,2$  л/моль·см. При выполнении биохимических методов анализа оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 (Beckman, США).

МДА определяли в неразбавленном надосадке после осаждения белков гомогената 6,0% трихлоруксусной кислотой (ТБК) и центрифугирования при 5000 оборотах/мин в течение 10 минут. Продукты ПОЛ с альдегидными группами и МДА образуют с ТБК в кислой среде при нагревании до 100°C выше нуля в течение 10 минут соединения, оптическую плотность которых измеряют при длине волны 532 нм. Для подсчета концентрации МДА использовали молярный коэффициент поглощения  $\varepsilon = 1,56 \cdot 10^5$ /моль·см. После определения МДА в надосадке определяли содержание тиола GSH. Тиолы с 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) кислотой (ДТНБК) или реактивом Элмана при pH 8,0 образуют соединение, оптическая плотность которого, измеренная при 412 нм, пропорциональна количеству SH-групп. Концентрацию GSH подсчитывали с использованием молярного коэффициента поглощения  $\varepsilon = 11400$ /моль·см.

Для подсчета индекса пролиферации клеток печени образцы ткани фиксировали в 10% нейтральном формалине при комнатной температуре в течение ночи, подвергали стандартной гистологической проводке и заливали в парафин. Срезы ткани толщиной 3-4 мкм изготавливали с помощью ручного микротомы Leica SM 2000R (Leica Microsystems, Германия), окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали в световой микроскоп Leica DM2500 при помощи программного пакета для захвата и анализа изображений Leica Application Suite (Leica Microsystems, Германия). Содержание в крови фракции лейкоцитов определяли с помощью гематологического анализатора Celly 70 (Biocode Nysel, Франция). При проведении работ было использовано оборудование Центра коллективного пользования ИИФ УрО РАН (ЦКП ИИФ УрО РАН).

Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартной ошибки среднего. Для выявления

различий между группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (U), результаты признавались статистически значимыми при  $P < 0,05$ . Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения OriginPro 9.0 (Originlab Corporation, США).

### Результаты и их обсуждение

Увеличение концентрации глюкозы и накопление гликированного гемоглобина в крови, а также повышение значений индекса НОМА-IR после введения диabetогена (Таблица 1) свидетельствуют о развитии экспериментального СД2, характеризующегося субкомпенсированным состоянием [15].

Таблица 1  
Модель сахарного диабета 2 типа (СД2)  
Table 1  
Type 2 diabetes (T2D) model

Исследуемый параметр Parameter	Экспериментальная группа Experimental group	
	Интактная Intact	СД2 T2D
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	6,21±0,35	12,98±0,97 <sup>1</sup>
НbA1c, % HbA1c, %	4,30±0,26	8,09±0,35 <sup>1</sup>
Инсулин, мкМЕ/мл Insulin, μIU/mL	20,9±1,9	16,0±0,8 <sup>1</sup>
НОМА-IR НОМА-IR	5,80±0,29	9,02±0,47 <sup>1</sup>

Примечание: <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  в сравнении с интактной группой.

Note: <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  in comparison with intact group.

В печени активность СОД и каталазы превышает таковую в селезёнке в 2,5 и 6 раз соответственно, а содержание глутатиона в 2 раза меньше (Таблица 2).

Таблица 2  
Активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы и содержание глутатиона (GSH) и малонового диальдегида (МДА) в тканях  
Table 2  
Tissue superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels

Исследуемый параметр Экспериментальная группа Parameter Experimental group	СОД, ед/мин·г SOD, U/min·g	Каталаза, ммоль/мин·г Catalase, mmol/min·g	GSH, мкмоль/г GSH, μmol/g	МДА, нмоль/г MDA, nmol/g
В печени In liver				
Интактная Intact	22,06±0,93	30,82±0,77	1,77±0,18	17,26±0,42
СД2 T2D	14,85±1,45 <sup>1</sup>	17,45±1,57 <sup>1</sup>	4,88±0,40 <sup>1</sup>	23,58±1,89 <sup>1</sup>
В селезёнке In spleen				
Интактная Intact	8,80±1,01 <sup>2</sup>	4,49±0,34 <sup>2</sup>	3,49±0,52 <sup>2</sup>	33,72±1,41 <sup>2</sup>
СД2				
T2D	7,02±1,24 <sup>2</sup>	4,72±0,50 <sup>2</sup>	0,68±0,09 <sup>1,2</sup>	51,77±3,45 <sup>1,2</sup>

Примечание: <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  в сравнении с интактной группой; <sup>2</sup> –  $p < 0,05$  в сравнении с соответствующим показателем в печени.

Note: <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  in comparison with intact group; <sup>2</sup> – in comparison with corresponding parameter in liver.

Количество МДА в селезенке интактных крыс в 2 раза превышает уровень этого продукта ПОЛ в печени, что является закономерным следствием меньшей активности ферментов АОЗ каталазы и СОД и позволяет сделать предположение о большей уязвимости клеток селезенки к действию оксидативного стресса даже у здоровых животных. У крыс с экспериментальным СД2 в печени снижается активность СОД и каталазы и увеличивается содержание глутатиона, тогда как в селезенке не обнаруживаются достоверных изменений активности антиоксидантных ферментов, а концентрация глутатиона снижается (Таблица 2). Несмотря на снижение активности антиоксидантных ферментов в печени крыс с экспериментальным СД2, уровень этих показателей еще значительно превышает те же параметры в селезенке (Таблица 2).

Можно предположить, что компенсация оксидативного стресса в печени у диабетических крыс происходит за счет накопления глутатиона, а в селезенке компенсация ПОЛ отсутствует. Концентрация МДА в селезенке крыс с экспериментальным СД2 в 2,2 раза выше, чем в печени, что может быть следствием недостаточной антиоксидантной защиты в селезенке. Различие в компенсации ПОЛ в печени и селезенке при моделировании СД2 проявляется в изменении скорости пролиферации клеток органов. О способности гепатоцитов к регенерации можно судить по величине митотического индекса. Обнаружено, что в печени диабетических крыс митотический индекс увеличился почти в 2,3 раза относительно показателя интактной группы (Таблица 3).

В селезенке содержится до 80% иммунокомпетентных клеток организма. В-лимфоциты после бласт-трансформации образуют клоны со специфической антигенной активностью, клетки активно делятся и поступают в кровь [16]. В то же время количество лимфоцитов и моноцитов периферической крови у крыс группы СД2 снизилось соответственно в 1,4 и в 2 раза относительно нормы (Таблица 3). После моделирования СД2 уменьшилось также количество нейтрофилов и общее количество лейкоцитов (Таблица 3), что делает вероятным предположение о декомпенсированном состоянии ПОЛ-АОЗ и в других органах иммунной системы. Это предположение подтверждается нашим предыдущим исследованием, где у диабетических крыс обнаружены снижение массы селезенки и тимуса соответственно в 1,5 и 2 раза и деструктивные изменения в виде нарушения структуры лимфоидных клеток [12].

Таблица 3  
Митотический индекс в печени и фракции лейкоцитов периферической крови  
Table 3  
Mitotic index in liver and peripheral blood leukocyte fractions

Исследуемый параметр Parameter	Экспериментальная группа Experimental group	
	Интактная Intact	СД2 T2D
Митотический индекс в печени,% Mitotic index in liver,%	26,05±2,92	57,80±4,13 <sup>1</sup>
Лейкоциты, тыс/мкл Leukocytes, thousand/mcl	13,12±0,71	8,33±0,68 <sup>1</sup>
Лимфоциты, тыс/мкл Lymphocytes, thousand/mcl	8,92±0,60	6,4±0,70 <sup>1</sup>
Моноциты, тыс/мкл Monocytes, thousand/mcl	0,41±0,04	0,20±0,03 <sup>1</sup>
Гранулоциты, тыс/мкл Granulocytes, thousand/mcl	3,79±0,27	1,66±0,08 <sup>1</sup>

Примечание: <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  в сравнении с интактной группой.

Note: <sup>1</sup> --  $p < 0,05$  in comparison with intact group.

Результаты, указывающие на большую подверженность селезенки оксидативному стрессу по сравнению с печенью, согласуются с экспериментальными исследованиями других авторов, где на стрептозотоциновой модели сахарного диабета 1 типа показана возможность корректирующего действия антиоксидантов на показатели ПОЛ-АОЗ в печени, но не в селезенке [6, 7].

## Заключение

Более низкая активность антиоксидантных ферментов в селезенке интактных крыс по сравнению с их активностью в печени позволяет предположить, что при развитии патологии окислительный стресс в селезенке развивается быстрее, чем в печени. При СД2 в печени наблюдается повышенная по сравнению с селезенкой активность СОД и каталазы и накопление восстановленного глутатиона, результатом чего могут быть лучшая выживаемость и пролиферация клеток печени по сравнению с селезенкой.

*Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации 122020900136-4).*

## ЛИТЕРАТУРА

- Okulicz M., Hertig I., Król E., Szkudelski T. Effects of Allyl Isothiocyanate on Oxidative and Inflammatory Stress in Type 2 Diabetic Rats. *Molecules*. 2022 Aug 29;27(17):5568. doi: 10.3390/molecules27175568
- Nait I.I. et al. Therapeutic Potential of Clove Essential Oil in Diabetes: Modulation of Pro-Inflammatory Mediators, Oxidative Stress and Metabolic Enzyme Activities. *Chem Biodivers*. 2023 Mar;20(3):e202201169. doi: 10.1002/cbdv.202201169
- Hajleh M.N.A. et al. Antioxidant and Antihyperglycemic Effects of Ephedra foeminea Aqueous Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Nutrients*. 2022 Jun 2;14(11):2338. doi: 10.3390/nu14112338
- An Y. et al. The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. *Cardiovasc Diabetol* 22, 237 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12933-023-01965-7>
- Дьяков Д.А., Акбашева О.Е. Оксидативный стресс и система протеолиза при сахарном диабете 2 типа. *Сахарный диабет*. 2022;25(1): 14–20. <https://doi.org/10.14341/DM12402>
- Chang C.C., Chang C.Y., Huang J.P., Hung L.M. Effect of resveratrol on oxidative and inflammatory stress in liver and spleen of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Chin J Physiol*. 2012 Jun 30;55(3):192-201. doi: 10.4077/CJP.2012.BAA012
- Ahmadi M., Hadjzadeh M.A., Rajaei Z. Effects of Berberis vulgaris fruit extract on oxidative stress status in the kidney and liver of diabetic rats. *J Complement Integr Med*. 2024 Jan 29;21(2):191-196. doi: 10.1515/jcim-2023-0163
- Емельянов В.В. и др. Влияние соединения класса 1,3,4-тиадиазинов на выраженность окислительного стресса при экспериментальном сахарном диабете 2 типа. *Химико-фармацевтический журнал*. 2023. Т.57, № 3. С. 20-24. doi.org/10.30906/0023-1134-2023-57-3-20-24
- Nair D., Nedungadi D., Mishra N., Nair B.G., Nair S.S. Identification of carbonylated proteins from monocytic cells under diabetes-induced stress conditions. *Biomed Chromatogr*. 2021 Jun;35(6):e5065. doi: 10.1002/bmc.5065
- Stefan N., Cusi K. A global view of the interplay between non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022 Apr;10(4):284-296. doi: 10.1016/S2213-8587(22)00003-1
- Daryabor G., Atashzar M.R., Kabelitz D., Meri S., Kalantar K. The Effects of Type 2 Diabetes Mellitus on Organ Metabolism and the Immune System. *Front Immunol*. 2020 Jul 22;11:1582. doi: 10.3389/fimmu.2020.01582
- Булавинцева Т.С., Медведева С.Ю., Гетте И.Ф., Абидов М.Т. Влияние активации макрофагального звена иммунной системы на состояние селезенки и тимуса при аллоксановом диабете // *Медицинская иммунология*. 2009. -Т.11.-№4-5.- 305-306.
- Спасов А.А., Воронкова М.П., Сингур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 // *Биомедицина*. 2011, № 3. С. 12-18.
- Lee J., Kim M.H., Jang J.Y., Oh C.M. Assessment HOMA as a predictor for new onset diabetes mellitus and diabetic complications in non-diabetic adults: a KoGES prospective cohort study. *Clin Diabetes Endocrinol*. 2023 Nov 16;9(1):7. doi: 10.1186/s40842-023-00156-3
- Осложнения сахарного диабета: лечение и профилактика // Под редакцией Дедова И.И., Шестаковой М.В. Медицинское информационное агентство. Москва, 2017.
- Lewis S.M., Williams A., Eisenbarth S.C. Structure and function of the immune system in the spleen. *Sci Immunol*. 2019 Mar 1;4(33):eaau6085. doi: 10.1126/sciimmunol.aau6085

## Авторы

Соколова Ксения Викторовна

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Лаборатории морфологии и биохимии  
xenia.socolova@gmail.com

Гетте Ирина Федоровна

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии  
i.goette@yandex.ru

Туканов Данил Александрович

Аспирант

danil\_tukanov@mail.ru

Данилова Ирина Георгиевна

Доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая Лабораторией морфологии  
и биохимии

ig-danilova@yandex.ru

ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук  
(ИИФ УрО РАН)

Екатеринбург, Российская Федерация

*K. V. Sokolova, I. F. Gette, D. A. Tukanov, I. G. Danilova***PECULIARITIES OF OXIDATIVE STRESS IN THE LIVER AND SPLEEN  
OF RATS WITH EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES MELLITUS**Federal State Budgetary Scientific Institution Institute of Immunology and Physiology of the Ural  
Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** The increase in the production rate of reactive oxygen species caused by chronic hyperglycemia leads to an imbalance in the lipid peroxidation-antioxidant defense system (LPO-AD). When the processes of lipid peroxidation intensify, the neutralizing activity of the antioxidant system eventually becomes insufficient, resulting in structural and functional damage to cell membranes and, ultimately, damage to individual cells and alterations in tissue functions. To prevent and treat complications of type 2 diabetes (T2D), it is crucial to understand the development of oxidative stress in various organs. This study presents data on the content of antioxidant defense system components in the liver and spleen tissues during the development of experimental T2D in rats. **Objective:** To compare the severity of oxidative stress in the liver and spleen of rats with experimental T2D. **Materials and Methods:** T2D was induced in male rats by intraperitoneal injection of 65 mg/kg streptozotocin, following a pre-administration of 110 mg/kg nicotinamide. Biochemical analysis determined the levels of malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH), as well as the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase in liver and spleen tissues. The mitotic index of liver cells was counted on tissue sections stained with hematoxylin and eosin, and the leukocyte count was determined using a hematology analyzer. **Results:** In intact rats, liver SOD and catalase activities were higher, while MDA levels were lower compared to the spleen. In the liver, T2D modeling was associated with an increase in GSH and MDA levels and a decrease in SOD and catalase activities. However, despite this decrease, enzyme activity in the liver significantly exceeded that in the spleen, and the mitotic index of liver cells increased. In the spleen, GSH levels decreased, and MDA levels increased more significantly than in the liver. The data suggest that during the development of experimental T2D, the spleen is more susceptible to oxidative stress than the liver.

**Keywords:** oxidative stress, antioxidant defense, type 2 diabetes, liver, spleen

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Danil A. Tukanov

danil\_tukanov@mail.ru

Received: 31.08.2024

For citation: Sokolova K.V., Gette I.F., Tukanov D.A., Danilova I.G. Peculiarities of oxidative stress in the liver and spleen of rats with experimental type 2 diabetes mellitus. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 5, pp. 565-573. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-565-573 (In Russ)

## REFERENCES

1. Okulicz M, Hertig I, Król E, Szkudelski T. Effects of Allyl Isothiocyanate on Oxidative and Inflammatory Stress in Type 2 Diabetic Rats. *Molecules*. 2022 Aug 29;27(17):5568. doi: 10.3390/molecules27175568.
2. Nait Irahali I, Darif D, Guenaoui I, Hmimid F, Azzahra Lahlou F, Ez-Zahra Ousaid F, Abdou-Allah F, Aitsi L, Akarid K, Bourhim N. Therapeutic Potential of Clove Essential Oil in Diabetes: Modulation of Pro-Inflammatory Mediators, Oxidative Stress and Metabolic Enzyme Activities. *Chem Biodivers*. 2023 Mar;20(3). doi: 10.1002/cbdv.202201169.
3. Hajleh MNA, Khleifat KM, Alqaraleh M, Al-Hraishat E, Al-Limoun MO, Qaralleh H, Al-Dujaili EAS. Antioxidant and Antihyperglycemic Effects of Ephedra foeminea Aqueous Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Nutrients*. 2022 Jun 2;14(11):2338. doi: 10.3390/nu14112338.
4. An Y. et al. The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. *Cardiovasc Diabetol* 22, 237 (2023). doi: 10.1186/s12933-023-01965-7
5. Dyakov D.A., Akbasheva O.E. Oxidative Stress and Proteolysis System in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Mellitus=Sakharny Diabet*. 2022; Vol. 25(1) pp. 14–20. <https://doi.org/10.14341/DM12402> (In Russ.)
6. Chang CC, Chang CY, Huang JP, Hung LM. Effect of resveratrol on oxidative and inflammatory stress in liver and spleen of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Chin J Physiol*. 2012 Jun 30;55(3) pp.192-201. doi: 10.4077/CJP.2012.BAA012.
7. Ahmadi M, Hadjzadeh MA, Rajaei Z. Effects of Berberis vulgaris fruit extract on oxidative stress status in the kidney and liver of diabetic rats. *J Complement Integr Med*. 2024 Jan 29; Vol. 21(2) pp. 191-196. doi: 10.1515/jcim-2023-0163.
8. Emelyanov V.V., Gette I.F., Danilova I.G., Sidorova L.P., Tseitler T.A., Mukhlynina E.A. The Effect of 1,3,4-Thiadiazine Compounds on the Severity of Oxidative Stress in Experimental Type 2 Diabetes Mellitus. *Pharmaceutical Chemistry Journal=Khimiko-Farmatsevticheskiy Zhurnal*. 2023; Vol. 57(3) pp. 20-24. doi: 10.30906/0023-1134-2023-57-3-20-24 (In Russ.)
9. Nair D, Nedungadi D, Mishra N, Nair BG, Nair SS. Identification of carbonylated proteins from monocytic cells under diabetes-induced stress conditions. *Biomed Chromatogr*. 2021 Jun; Vol. 35(6). doi: 10.1002/bmc.5065.
10. Stefan N, Cusi K. A global view of the interplay between non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022 Apr; Vol. 10(4) pp. 284-296. doi: 10.1016/S2213-8587(22)00003-1.
11. Daryabor G, Atashzar MR, Kabelitz D, Meri S, Kalantar K. The Effects of Type 2 Diabetes Mellitus on Organ Metabolism and the Immune System. *Front Immunol*. 2020 Jul 22;11:1582. doi: 10.3389/fimmu.2020.01582. PMID: 32793223;
12. Bulavintseva T.S., Medvedeva S.Yu., Gette I.F., Abidov M.T. The Effect of Activation of the Macrophage Link of the Immune System on the Condition of the Spleen and Thymus in Alloxan Diabetes. *Medical Immunology=Meditsinskaya Immunologiya*. 2009; Vol. 11(4-5) pp. 305-306 (In Russ.)
13. Spasov A.A., Voronkova M.P., Singur G.L., Cheplyaeva N.I., Chepurnova M.V. Experimental Model of Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomedicine=Biomeditsina*. 2011; Vol. 3 pp. 12-18 (In Russ.)
14. Lee J., Kim M.H., Jang J.Y., Oh C.M. Assessment HOMA as a predictor for new onset diabetes mellitus and diabetic complications in non-diabetic adults: a KoGES prospective cohort study. *Clin Diabetes Endocrinol*. 2023 Nov 16;9(1):7. doi: 10.1186/s40842-023-00156-3
15. Dedov I.I., Shestakova M.V. (Eds.). *Diabetes Complications: Treatment and Prevention*. medical

information agency, Moscow=Meditinskoe Informatsionnoe Agentstvo, Moskva; 2017. p. 744 (InRuss.)

16. Lewis S.M., Williams A., Eisenbarth S.C. Structure and function of the immune system in the spleen. *Sci Immunol.* 2019 Mar 1;4(33):eaau6085. doi: 10.1126/sciimmunol.aau6085

Authors

Ksenia V. Sokolova

Cand. Sc. (Biology), Senior Researcher, Morphology and Biochemistry Lab  
xenia.sokolova@gmail.com

Irina F. Gette

Cand. Sc. (Biology), Senior Researcher, Morphology and Biochemistry Lab  
i.goette@yandex.ru

Danil A. Tukanov

Postgraduate student  
danil\_tukanov@mail.ru

Irina G. Danilova

Sc. (Biology), Chief Researcher, Head of the Morphology and Biochemistry Lab  
ig-danilova@yandex.ru

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIP UB RAS)

Yekaterinburg, Russian Federation