

©Коллектив авторов

## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ТОПИНАМБУРА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

А.Т. Епринцев\*, Н.В. Селиванова, А.В. Моисеенко

Воронежский государственный университет,  
394006, Воронеж, Университетская пл., 1, \*эл. почта: bc366@bio.vsu.ru

Выявлено увеличение активности и появление новой изоформы NAD-зависимой малатдегидрогеназы (МДГ; КФ 1.1.1.37) в печени крыс при аллоксановом диабете, что подтверждает возможность участия малатдегидрогеназной ферментной системы в адаптивной реакции организма при окислительном стрессе, вызванном биохимическими изменениями в диабетических клетках. Рост активности исследуемого фермента в условиях экспериментального диабета I типа связан с образованием дополнительной изоформы МДГ в пероксисомах. Данные по экспрессии генов *mdh1* и *mdh2* МДГ подтверждают, что при диабете активация ферментов происходит на уровне транскрипции их генов. Использование экстракта топинамбура способствовало заметному снижению концентрации глюкозы в крови крыс при аллоксановом диабете, нивелировало изменение транскрипционной активности исследуемых генов и, как следствие, блокировало образование новой изоформы МДГ у крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом, вследствие чего данный экстракт может представлять значительный интерес с точки зрения фармакологической коррекции изменений метаболизма при развитии патологий подобного рода.

**Ключевые слова:** малатдегидрогеназа; изофермент; ген; диабет; фитопротектор

**DOI:** 10.18097/PBMC20216702144

### ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) – одно из самых распространённых в мире заболеваний. Число больных СД постоянно растёт. Согласно данным IDF (International Diabetes Federation, Международная диабетическая федерация), к 2040 г. число больных СД превысит 600 млн [1].

Среди способов защиты от повреждений клетки, вызванных СД, важную роль играют природные вещества, содержащиеся в экстрактах растений. Экстракты листьев и клубней топинамбура (*Helianthus tuberosus*), которые используются для лечения диабета в качестве источника инулина, содержат значительное количество фруктанов, пищевых растворимых волокон, сесквитерпенов, дитерпенов и аналогов хлорогеновой кислоты [2]. Инулин и комплекс других биологически активных веществ в составе сухого концентрата топинамбура влияют на активность процесса образования островков в поджелудочной железе, особенно в течение первых трёх недель, облегчая тем самым тяжесть течения аллоксанового диабета у крыс [3]. Кроме того, инулин адсорбирует глюкозу и оказывает влияние на инсулинозависимые клетки, повышая их сродство к инсулину, и тем самым снижая уровень глюкозы в крови [4].

Адаптация организма животных к аллоксановому экспериментальному диабету представляет сложный многоэтапный процесс, главным звеном которого является трансформация клеточного метаболизма. Индукция ферментов глиоксилатного цикла и цикла трикарбоновых кислот в тканях животных обеспечивает изменение основных путей метаболизма, обусловленных ресинтезом гликогена в печени крыс при патологиях, связанных с пищевой депривацией и экспериментальным диабетом [5]. Ранее в нашей

лаборатории была установлена индукция маркерных ферментов глиоксилатного цикла в гепатоцитах крыс при аллоксановом диабете [6]. Кроме того, что глюконеогенез выступает как важнейший процесс при адаптивной реакции организма к экстремальным условиям, важную роль играет энергетический обмен, связанный, главным образом, с функционированием цикла Кребса. Следовательно, адаптация клеточного метаболизма обеспечивается соотношением интенсивности катаболизма и анаболизма глюкозы в клетках печени и других органов животного организма. Важная роль в осуществлении адаптивных реакций организма принадлежит малатдегидрогеназной ферментной системе. Малатдегидрогеназа (МДГ, К.Ф.1.1.1.37), являясь полифункциональным ферментным комплексом, обеспечивает протекание конструктивного и энергетического обменов [7].

В связи с этим, целью данной работы являлось исследование особенностей функционирования МДГ-системы в гепатоцитах крыс при аллоксановом диабете и выяснение влияния водного экстракта топинамбура (ВЭТ) на активность и скорость транскрипции МДГ в печени крыс при патологии.

### МЕТОДИКА

Объектом исследования служили самцы белых лабораторных крыс линии Wistar массой 150-200 г. Животных содержали в условиях вивария при стандартной температуре с естественным освещением и свободным доступом к воде и корму.

Индукцию сахарного диабета вызывали путём однократной внутрибрюшинной инъекции 5% (масса/объём) моногидрата аллоксана в 0,9% (масса/объём) растворе NaCl [8]. Контрольным животным вводили 0,9% (масса/объём) раствор NaCl.

После проявления признаков диабета тридцать шесть крыс были случайным образом разделены на три группы по двенадцать крыс в каждой; “Норма” — крысы контрольной группы, “Диабет” — диабетические крысы и “Диабет + ВЭТ” — животные с аллоксановым диабетом, получавшие экстракт топинамбура. Крысы из групп “Норма” и “Диабет” получали дистиллированную воду, а “Диабет+ВЭТ” — водный экстракт топинамбура в течение 14 дней.

Для приготовления водного экстракта листьев топинамбура (*Helianthus tuberosus*) использовали сухое растительное сырье, которое измельчали в порошок, заливали горячей водой в соотношении 5 г сырья на 100 мл воды, настаивали 24 ч, фильтровали и добавляли в поилки в дозе 60 мг/кг массы тела в один раз в сутки.

Для получения ткани печени опытных животных подвергали декапитации под эфирным наркозом. Определение глюкозы производили с помощью глюкометра “Сателлит плюс” (Россия). Забор крови проводили из кончика хвоста в утренние часы натощак.

Для получения гомогената печени крысы навеску ткани растирали в трёхкратном объёме охлаждённой среды выделения (50 мМ трис-НСl-буфер (рН 7,8), содержащей 1 мМ ЭДТА, 2 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2 мМ ДТТ) и центрифугировали при 5000 г в течение 10 мин. Полученный супернатант использовали для дальнейших исследований.

Активность МДГ измеряли спектрофотометрически на спектрофотометре СФ-2000 (Россия) при 340 нм по изменению оптической плотности реакционных смесей, определяемой скоростью расщепления NADH. Среда содержала 50 мМ трис-НСl буфер, рН 7,5; 1,5 мМ оксалоацетат и 0,15 мМ NADH, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 4 мМ ДТТ. За единицу активности (Е) МДГ принимали количество фермента, необходимого для превращения 1 мкмоль субстрата в 1 мин при 25°C. Для определения содержания белка использовали метод Лоури. Активность ферментов выражали в виде удельной активности (Е/мг белка).

Для анализа изоферментного состава МДГ из гепатоцитов печени крыс проводили электрофорез в полиакриламидном геле по модифицированной методике Дэвиса [9], используя 7,5% разделяющий и 2% концентрирующий гели. Электродный буфер представлял собой смесь 0,05 М трис-глицинового буфера, рН 8,6 с 0,01% бромфеноловым синим [10]. Специфическое проявление геля на активность МДГ осуществляли тетразолиевым методом в среде следующего состава: 0,05 М трис-НСl буфера, рН 7,5; 0,2 М малат натрия, 3 мМ NAD<sup>+</sup>; 1 мМ MgCl<sub>2</sub>; 0,01 М феназинметасульфата и 0,01 М нитросинего тетразолия. В карман геля вносили 5 мкг белка исследуемого раствора. Для предотвращения частичной деградации белков в среду добавляли ингибиторы протеаз: 0,1 мМ *n*-хлормеркурий бензоат и 0,1 мМ фенилметилсульфонилфторид.

Определение субклеточной локализации проводили путём изоплотностного центрифугирования в градиенте сахарозы на центрифуге “Beckman” (США) при 100000 г 90 мин при 0°C в ступенчатом градиенте

следующего состава: 50 мМ трис-НСl, рН 7,5; 2 мМ ЭДТА; 3 мМ ДТТ; сахароза в концентрациях 2,5 М; 2,3 М; 1,8 М; 1,5 М; 1,3 М. Полученные фракции осторожно собирали пастеровской пипеткой и разбавляли буфером до концентрации сахарозы 0,4-0,5 М, а затем центрифугировали 30 мин при 12000 г для осаждения органелл. Полученные осадки разрушали осмотическим шоком (в 50 мМ трис-НСl буфере, рН 7,5). Перекрёстное загрязнение определяли по активности маркерных ферментов цитоплазмы (алкоголдегидрогеназа [11]), митохондрий (сукцинатдегидрогеназа [12]) и пероксином (каталаза [13]).

Суммарную клеточную РНК выделяли с помощью метода фенол-хлороформной экстракции с использованием в качестве осадителя LiCl [14].

Для визуализации и анализа качества выделенной РНК применяли электрофорез в 1%-ном агарозном геле (масса/объём). Окрашивание геля осуществляли 0,1% спиртовым раствором бромистого этидия. Обратную транскрипцию мРНК проводили с использованием фермента М-MuLV обратной транскриптазы и праймерами олиго(dТ) (“СибЭнзим”, Россия) для синтеза первой цепи кДНК согласно инструкции производителя.

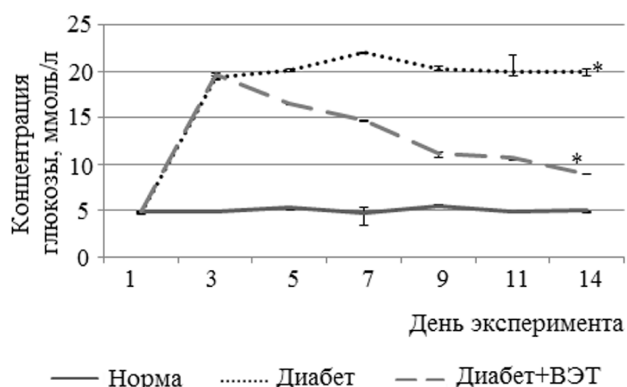
Специфические праймеры подбирали с использованием нуклеотидных последовательностей *mdh1* и *mdh2* крысы, взятых из международной базы данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genes/>), с помощью программы Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Праймеры к гену *mdh1*: прямой — 5'-gctctactcgttcctctgctg-3'; обратный — 5'-acgactgtgtatgcatgcgg-3'; к гену *mdh2*: прямой — 5'-accsccaagggtgactttcc-3'; обратный — 5'-ttcctccattcatggcgt-3'.

Полимеразную цепную реакцию с генспецифичными праймерами проводили с помощью набора реактивов AmpliSence (“Хеликон”, Россия) на приборе LightCycler 96 (“Roche”, Швейцария), используя в качестве красителя SYBR Green. Параметры амплификации — предварительная денатурация: 95°C — 5 мин, затем цикл: 95°C — 20 с, 60°C — 30 с, 72°C — 40 с (детекция), финальная элонгация: 72°C — 10 мин.

Статистический анализ проводили с использованием программы StatTech v. 1.2.0 (“Статтех”, Россия). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывали с помощью средних арифметических величин (М) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). Сравнение трёх и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполняли с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения проводили с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий). Обсуждаются статистически достоверные различия при  $p < 0,05$ .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

До введения аллоксана уровень глюкозы крови у животных исследуемых групп был практически одинаков ( $p=0,006$ ). Через 72 ч после введения аллоксана у животных был обнаружен повышенный уровень глюкозы (Диабет = 19,3 [19,15–19,4] ммоль/л и Диабет+ВЭТ = 19,72 [19,53–19,77] ммоль/л) (рис. 1). Крысы из групп Норма и Диабет получали дистиллированную воду, а в группе Диабет+ВЭТ воду заменили на водный экстракт топинамбура в дозе 60 мг/кг массы тела один раз в сутки (опираясь на предварительные данные, полученные в нашей лаборатории) в течение 14 дней. В конце экспериментального периода уровень глюкозы в группе Диабет+ВЭТ был всё ещё повышен по сравнению с контрольной группой, но достоверно ниже, чем в группе Диабет (Диабет = 19,95 [19,92–19,98] ммоль/л и Диабет+ВЭТ = 8,95 [8,62–9,27] ммоль/л). У группы контрольных здоровых животных уровень глюкозы в крови колебался в пределах нормы



**Рисунок 1.** Динамика изменения уровня глюкозы в крови у крыс. Норма — крысы контрольной группы (n=12); Диабет — крысы, подвергнутые аллоксановому диабету (n=12); Диабет+ВЭТ — животные с патологией, принимавшие экстракт топинамбура (n=12). \*Согласно полученным данным при сопоставлении зависимости концентрации глюкозы для групп Диабет и Диабет+ВЭТ от дня эксперимента, нами были выявлены статистически значимые различия ( $p=0,007$  ( $p_{11\text{день}-1\text{день}}=0,009$ ),  $p=0,006$  ( $p_{3\text{день}-1\text{день}}=0,009$ ) соответственно). Для группы Норма не удалось выявить статистически значимых различий ( $p=0,207$ ). Используемый метод: Критерий Краскела-Уоллиса.

**Таблица.** Удельная активность малатдегидрогеназы в субклеточных компартментах гепатоцитов печени крыс контрольной группы (норма), подвергнутых аллоксановому диабету (диабет) и животных с патологией, принимавших экстракт топинамбура (диабет+ВЭТ)

Показатель	Норма	Диабет	Диабет+ВЭТ
Активность МДГ в цитоплазме, Е/мг белка; М±SD (95% ДИ)	1,4±0,27* (1,13-1,67)	2,12±0,15** (1,95-2,29)	1,57±0,27** (1,26-1,87)
Активность МДГ в митохондриях, Е/мг белка; М±SD (95% ДИ)	1,5±0,19*** (1,3-1,69)	4,62±0,1* (4,51-4,74)	1,85±0,1*** (1,73-1,96)
Активность МДГ в пероксисомах, Е/мг белка; М±SD (95% ДИ)	—	0,81±0,13 (0,66-0,96)	—

Примечание. Исходя из полученных данных при сопоставлении активности МДГ в цитоплазме и митохондриях были выявлены статистически значимые различия (\* $p<0,001$ ; \*\* $p_{\text{Диабет}-\text{Диабет+ВЭТ}} = 0,003$ ; \*\*\* $p_{\text{Норма}-\text{Диабет+ВЭТ}} = 0,027$ ). Используемый метод: Дисперсионный анализ.

на протяжении всего времени эксперимента и в среднем составлял 4,8-5,4 ммоль/л. Причина снижения гипергликемии при употреблении водного экстракта листьев *H. tuberosus* до нормогликемии может быть связана с его способностью ингибировать всасывание глюкозы из кишечника, что способствует высвобождению глюкозы из печени. При этом содержащийся в экстракте инулин стимулирует синтез инсулина поджелудочной железой [3].

Сравнение удельной активности МДГ из гепатоцитов печени крыс показывает существование в клеточных компартментах печени здоровых крыс двух пулов активности МДГ: цитоплазматической и митохондриальной, тогда как у крыс с диабетом активность данного фермента обнаружена ещё и в пероксисомальной фракции (таблица). Соотношение цитоплазматической и митохондриальной форм МДГ составляло 46,0% и 54,0% в нормальных условиях, в условиях экспериментального диабета — 25,0% и 58,0% в цитоплазме и митохондриях соответственно, а в пероксисомах — 16,0%. Следует отметить, что уровень перекрёстного загрязнения составлял 4-6%, что считается приемлемым для интерпретации данных.

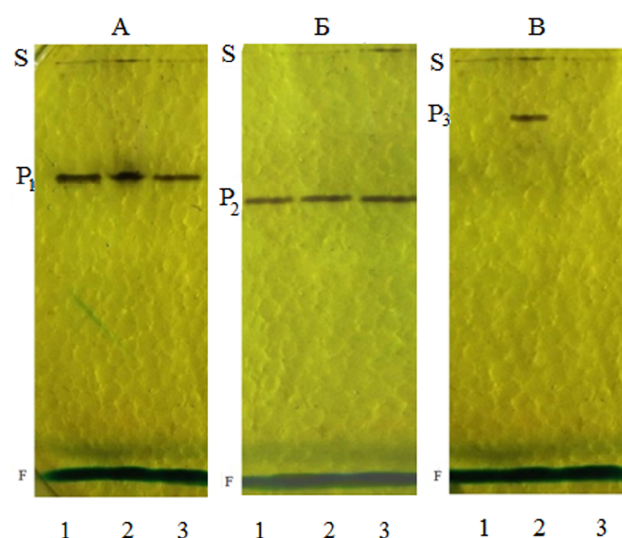
При определении активности МДГ у животных с СД, получавших ВЭТ, активность в пероксисомальной фракции не была обнаружена, а значение активности МДГ практически соответствует показателям в норме (соотношение цитоплазматической и митохондриальной активности МДГ составляет 44% и 56% соответственно). Схожая картина была отмечена при исследовании влияния водного экстракта Оливы европейской (*Olea europaea*) на функционирование ферментов глиоксилатного цикла и ЦТК у крыс в условиях СД. Показано, что экстракт оливы, введённый крысам, оказывает нивелирующее действие на изменение активности МДГ [15].

Выявленное увеличение активности МДГ свидетельствует об ускорении метаболических процессов, в функционировании которых участвует данный фермент. Однако точные причины его роста до конца не понятны и требуют более детального изучения. Интересно, что проведённые ранее исследования показали существенное перераспределение малатдегидрогеназной активности в сторону пероксисомальной фракции гепатоцитов при голодании крыс [16].

Для решения вопроса об активации при аллоксановом диабете тех или иных метаболических процессов, связанных с малатдегидрогеназной активностью, проводили изучение её изоферментного состава. Электрофоретические исследования, осуществлённые в полиакриламидном геле, показали, что по сравнению с контрольными животными и крысами, принимавшими растительные экстракты, в гепатоцитах которых присутствуют две изоформы — МДГ1 (цитоплазматическая) и МДГ2 (митохондриальная) с  $R_f$  0,29 и 0,36 соответственно, у животных с экспериментальным диабетом появляется дополнительная изоформа МДГ3. Индуцированная форма характеризовалась более медленной скоростью движения по гелю (её  $R_f$  составила 0,20) и была обнаружена в пероксисомальной фракции (рис. 2).

Анализ полученных данных позволяет предположить, что увеличение активности МДГ связано с появлением дополнительной изоформы, локализованной в пероксисомальной фракции. Ранее было показано, что в условиях экспериментального диабета и при пищевой депривации происходит индукция активности маркерных ферментов глиоксилатного цикла — изоцитратлиазы и малатсинтазы в печени и почках крыс [5, 6], поэтому мы предполагаем, что индуцибельная форма МДГ может принимать участие в процессах глюконеогенеза. Применение водного экстракта топинамбура блокирует образование пероксисомальной МДГ у крыс с экспериментальным диабетом.

Изменение изоферментного состава у крыс при аллоксановом диабете может быть обусловлено дифференциальной экспрессией генов, кодирующих МДГ. Результаты исследования ПЦР-РВ

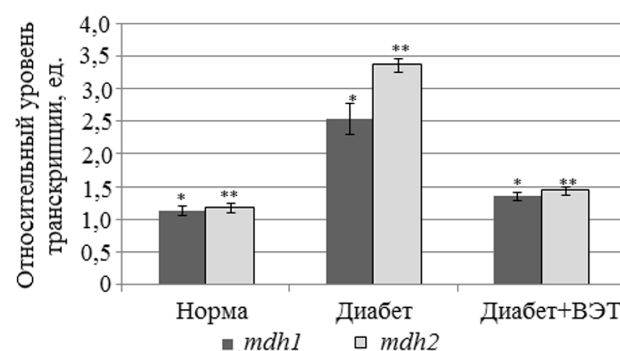


**Рисунок 2.** Изоферментный состав малатдегидрогеназы в цитоплазматической (а); митохондриальной (б) и пероксисомальной (в) фракциях печени крыс контрольной группы (1), подвергнутых аллоксановому диабету (2) и животных с патологией, принимавших экстракт топинамбура (3). S — линия старта, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> — изоформы малатдегидрогеназы, F — фронт маркера-красителя бромфенолового синего.

приведены на рисунке 3, из которого видно, что в печени крыс при диабете концентрация транскриптов исследуемых генов возрастала по сравнению с данным показателем в контрольной группе крыс. Увеличение уровня транскрипции гена *mdh2* у крыс, подвергнутых аллоксановому диабету, более чем в 2 раза по сравнению с контрольной группой, коррелирует с ростом активности митохондриальной формы МДГ. Повышение скорости работы гена *mdh1* в 1,8 раза в условиях диабета может быть связано с появлением дополнительной пероксисомальной формы МДГ, вероятно, за счёт альтернативного сплайсинга. По данным Stibler и соавт., с-терминально расширенная изоформа, содержащая пероксисомальный целевой сигнал 1 (PTS1), образуется при использовании альтернативного стоп-кодона и что эта изоформа локализуется в пероксисомах [17].

При введении экстракта топинамбура относительный уровень транскриптов исследуемых генов приближался к значениям контрольной группы. Механизм протекторного действия ВЭТ неизвестен. Можно предположить, что экстракт топинамбура обладает гипогликемическим действием, проявляющимся в резком снижении концентрации глюкозы в крови крыс при аллоксановом диабете, что в свою очередь приводит к биохимическим изменениям. Необходимость дополнительного синтеза МДГ исчезает и, соответственно, снижается скорость экспрессии генов, кодирующих этот фермент.

Полученные данные свидетельствуют, что увеличение активности МДГ и появление дополнительной формы этого фермента может быть связано с увеличением уровня транскрипции генов *mdh1* и *mdh2* и осуществляется по механизму синтеза *de novo*. При этом применение ВЭТ нивелирует изменение транскрипционной активности исследуемого гена и, как следствие, блокирует образование новой изоформы малатдегидрогеназы у крыс с экспериментальным диабетом.



**Рисунок 3.** Относительный уровень транскриптов генов малатдегидрогеназы *mdh1* (цитоплазматический) и *mdh2* (митохондриальный) из печени крыс контрольной группы (Норма), подвергнутых аллоксановому диабету (Диабет) и животных с патологией, принимавших экстракт топинамбура (Диабет+ВЭТ). При оценке относительного уровня транскрипции генов *mdh1* и *mdh2* во всех группах исследуемых животных были выявлены статистически значимые различия (\* $p=0,039$ ; \*\* $p<0,001$ ). Используемый метод: Дисперсионный анализ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Таким образом, нами было выявлено увеличение активности и появление пероксисомальной изоформы МДГ в печени крыс в условиях экспериментального диабета. Данные по экспрессии генов *mdh1* и *mdh2* свидетельствуют, что при диабете увеличение активности изоферментов происходит на уровне транскрипции соответствующих генов.

Кроме того, полученные результаты свидетельствуют, что исследуемый растительный экстракт обладает гипогликемическим действием, проявляющимся в заметном снижении концентрации глюкозы в крови крыс при аллоксановом диабете; нивелирует изменение транскрипционной активности исследуемых генов и, как следствие, блокирует образование новой изоформы МДГ у крыс с патологией.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят компанию “Евроген” за синтез используемых в исследовании олигонуклеотидов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ проекта № 20-04-00296.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры эксперимента соответствовали требованиям международных правил гуманного отношения к животным, отражённых в санитарных правилах по отбору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *International Diabetes Federation* (2015) IDF Diabetes Atlas, 7th ed. Brussels: International Diabetes Federation. <http://www.diabetesatlas.org>
2. Chang W.C., Jia H., Aw W., Saito K., Hasegawa S., Kato H. (2014) Br. J. Nutr., **112**(5), 709-717.
3. Пальчикова Н.А., Лутов Ю.В., Обухова Л.А., Селятицкая В.Г. (2007) Сибирский научный медицинский журнал, **2**, 114-118. [Pal'chikova N.A., Lutov Yu.V., Obuhova L.A., Selyaticskaya V.G. (2007) Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal, **2**, 114-118]
4. Ладнова О.Л., Меркулова Е.Г. (2008) Успехи современного естествознания, **2**, 6-7. [Ladnova O.L., Merkulova E.G. (2008) Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya, **2**, 6-7.]
5. Епринцев А.Т., Попов В.Н., Шевченко М.Ю. (2007) Глиоксилатный цикл: универсальный механизм адаптации? Москва, Академкнига, 228 с. [Eprintsev A.T., Popov V.N., Shevchenko M.Yu. (2007) Glioksilatnyj cikl: universal'nyj mekhanizm adaptacii? Moskva, Akademkniga, 228 p.]
6. Епринцев А.Т., Попов В.Н., Шевченко М.Ю. (2005) Экспрессия и регуляция ферментов глиоксилатного цикла, Воронеж, Центрально-черноземное книжное издательство, 224 с. [Eprintsev A.T., Popov V.N., Shevchenko M.Yu. (2005) Ekspressiya i regulyaciya fermentov glioksilatnogo cikla, Voronezh, Central'no-chernozemnoe knizhnoe izdatel'stvo, 224 p.]
7. Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Gataullina M.O., Igamberdiev A.U. (2020) J. Plant Physiol., **257**, 153350. DOI: 10.1016/j.jplph.2020.153350.
8. Lenzen S. (2008) Diabetologia, **51**(2), 216-226.
9. Pollock N.L., Rai M., Simond K.S., Hesketh S.J., Teo A.C.K., Parmar M., Sridhar P., Collins R., Lee S.C., Stroud Z.N., Bakker S.E., Muench S.P., Barton C.H., Hurlbut G., Roper D.I., Smith C.J.I., Knowles T.J., Spickett C.M., East J.M., Postis V.L.G., Dafforn T.R. (2019) Biochim. Biophys. Acta Biomembr., **1861**(8), 1437-1445.
10. Harper S., Speicher D.W. (2019) Curr. Protoc. Protein Sci., **96**(1), e87. DOI: 10.1002/cpps.87.
11. Jelski W., Laniewska-Dunaj M., Orywal K., Kochanowicz J., Rutkowski R., Szmikowski M. (2014) Neurochem. Res., **39**, 2313-2318.
12. Епринцев А.Т., Федорин Д.Н., Селиванова Н.В., Бу Т.Л., Махмуд А.С., Попов В.Н. (2012) Физиол. Раст., **59**(3), 332-340. [Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Selivanova N.V., Vu T.L., Mahmud A.S., Popov V.N. (2012) Fiziol. Rast., **59**(3), 332-340.]
13. Nadeem M.S., Khan J.A., Murtaza B.N., Muhammad K., Rauf A. (2015) South Asian J. Life Sci., **3**(2), 51-55.
14. Епринцев А.Т., Федорин Д.Н. (2008) Идентификация и исследование экспрессии генов, Издательство Воронеж. ун-та, Воронеж, 62 с. [Eprintsev A.T., Fedorin D.N. (2008) Identifikaciya i issledovanie ekspressii genov, Izdatel'stvo Voronezh. un-ta, Voronezh, 62 p.]
15. Аль Дайни С. (2012) Влияние водного экстракта Оливы европейской (*Olea europaea*) на функционирование ферментов глиоксилатного цикла у крыс в условиях экспериментального диабета. Автореферат дис. кандидата биологических наук, Воронеж. гос. ун-т, Воронеж. [Al' Dajni S. (2012) Vliyanie vodnogo ekstrakta Olivy evropejskoj (*Olea europaea*) na funkcionirovanie fermentov glioksilatnogo cikla u krysv v usloviyah eksperimental'nogo diabeta. Avtoreferat dis. kandidata biologicheskikh nauk, Voronezh. gos. un-t, Voronezh.]
16. Попов В.Н., Волвенкин С.В., Косматых Т.А., Суад А., Шнарренбергер С., Епринцев А.Т. (2001) Биохимия, **66**(5), 617-623. [Popov V.N., Volvenkin S.V., Kosmatyh T.A., Suad A., Shnarrenberger S., Eprintsev A.T. (2001) Biohimiya, **66**(5), 617-623.]
17. Stiebler A.C., Freitag J., Schink K.O., Stehlik T., Tillmann B.A.M., Ast J., Böller M. (2014) PLoSGenet, **10**(10), 1004685. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004685.

Поступила в редакцию: 13. 02. 2021.  
После доработки: 03. 03. 2021.  
Принята к печати: 22. 03. 2021.

**EFFECT OF JERUSALEM ARTICHOKE EXTRACT ON THE FUNCTIONING  
OF MALATE DEHYDROGENASE IN THE LIVER OF RATS WITH ALLOXAN DIABETES**

*A.T. Eprintsev\*, N.V. Selivanova, A.V. Moiseenko*

Voronezh State University,  
1 Universitetskaya sq., Voronezh, 394006 Russia; \*e-mail:bc366@bio.vsu.ru

An increase in the activity and the appearance of a new isoform of NAD-dependent malate dehydrogenase (MDH; EC 1.1.1.37) has been detected in the liver of rats with alloxan diabetes was revealed. This confirms the possibility of MDH involvement in the adaptive reaction of the body under oxidative stress caused by biochemical changes in diabetic animals. The increase in the hepatic MDH activity in rats with experimental type I diabetes mellitus (T1DM) is associated with the formation of an additional MDH isoform in peroxisomes. Data on the expression of the MDH encoding genes *mdh1* and *mdh2* confirm that in T1DM the increase in MDH activity occurs at the level of transcription of MDH encoding genes. The use of the extract of *Helianthus tuberosus* led to a marked decrease in the blood glucose concentration of rats with alloxan diabetes, abolished by the change in transcriptional activity of the studied genes and blocked the formation of new MDH isoforms in rats with experimental alloxan diabetes. This suggests that extract of *H. tuberosus* may be of considerable interest from the point of view of pharmacological correction of metabolic changes during the development of pathologies of this kind.

**Key words:** malate dehydrogenase; isoenzyme; gene; diabetes; phytoprotector

**Funding.** The study was carried out with the financial support of the (RFBR) Russian Foundation for Basic Research project No. 20-04-00296.

Received: 13.02.2021, revised: 03.03.2021, accepted: 22.03.2021.