

О. М. Олещук¹, Г. Я. Лой¹, В. А. Дацко², А. В. Черноמידз¹, М. П. Кланца¹, В. В. Черняшова¹

¹ ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

² ДЕРЖАВНЕ НЕКОМЕРЦІЙНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ІНСТИТУТ СЕРЦЯ
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»

СИНТЕЗ ПОЛІАМІНІВ ЗА ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ЯК ПРЕДИКТОР ПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ L-ОРНІТИНУ L-АСПАРТАТУ

Вступ. Поліаміни беруть участь у багатьох фундаментальних процесах клітинного росту і виживання. Внутрішньоклітинні рівні поліамінів залежать від активності біосинтетичних та катаболічних ензимів і статусу транспортерів. Їх синтез порушується за умов ураження печінки. L-орнітину L-аспартат (LOLA) – це суміш ендogenous амінокислот із доведеною гепатопротекторною дією. Після декарбоксилювання L-орнітин бере участь у синтезі поліамінів і виступає як регулятор цього процесу.

Мета дослідження – встановити роль синтезу поліамінів у механізмі протекторної дії L-орнітину L-аспартату за гострого гепатиту.

Методи дослідження. Дослідження проведено на 48 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях із вихідною масою 170–180 г. Гострий токсичний гепатит моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням тетраклорметану у розрахунок 2 г/кг маси тіла у вигляді 50%-го олійного розчину. Препарат LOLA вводили в дозі 200 мг/кг, а D, L - α диформетилорнітин (DFMO) – по 25 мг/кг протягом 2 діб інтраперитонеально, один раз на добу. Дослідження проводили на 3-тю добу після моделювання гепатиту. Матеріалом для дослідження були печінка, сироватка крові.

Результати й обговорення. У тварин із гострим токсичним гепатитом спостерігалися такі зміни: зменшення вмісту путресцину в гомогенатах печінки, виражене збільшення маси печінки, зростання активності амінотрансфераз, лужної фосфатази, гамма-глутамілтрансферази, зростання вмісту загального білірубину та загального холестеролу в сироватці та зниження концентрацій сечовини й загального білка в крові та в печінці. Корекція препаратом LOLA сприяла попередженню розвитку процесів цитолізу та холестази, покращувала синтезуючу функцію печінки. Застосування DFMO реверсувало всі перелічені ефекти LOLA.

Висновки. За гострого токсичного гепатиту в щурів пригнічується синтез поліамінів, проте корекція за допомогою LOLA покращує поліамінсинтезуючу функцію печінки. Застосування блокатора синтезу поліамінів DFMO реверсувало більшість ефектів LOLA у попередженні розвитку патологічних змін, зокрема процесів цитолізу та холестази, та сприяло погіршенню синтезуючої функції печінки, що свідчить про поліамінзалежний механізм протекторної дії L-орнітину L-аспартату за гострого гепатиту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поліаміни; L-орнітину L-аспартат; гепатопротектор; гепатит; цитоліз; холестази.

ВСТУП. Поліаміни (путресцин, спермідин і спермін) – це багатofункціональні полікаціїони, що є похідними амінокислот і беруть участь у багатьох фундаментальних процесах клітинного росту та виживання. Вони опосередковують низку біологічних процесів: синтез і стабільність ДНК, реплікацію, транскрипцію та трансляцію, біогенез рибосом, модуляцію іонних каналів і рецепторів та фосфорилування протеїнів. Ба більше, путресцин, спермідин і спермін володіють протизапальними й антиоксидантними властивостями, а отже, можуть бути залучені до захисту клітин організму під час старіння та в разі захворювання [1].

Внутрішньоклітинні рівні поліамінів залежать від активності їх біосинтетичних і катаболічних ензимів, а також від статусу поліамінних транспортерів [2; 3]. Виснаження пулу поліамінів призводить до цитостази [2; 4]. Різноманітні порушення метаболізму поліамінів відіграють важливу роль у таких патологічних процесах, як дисдиференціація та малігнізація, ріст і прогресія пухлин, запалення, імунологічна реактивність тощо [5; 6; 7]. Тому вони розглядаються як внутрішньоклітинні маркери росту та проліферації [3; 8]. Дані літератури свідчать про порушення синтезу поліамінів за умов ураження печінки [9; 10].

Лікарські препарати на основі амінокислот проявили себе як ефективні гепатопротектори, адже вони можуть покращувати

метаболічну й синтезуючу функції печінки, сприяти регенерації гепатоцитів та активізувати процеси детоксикації [11]. L-орнітину L-аспартат (LOLA) – це суміш ендogenous амінокислот із доведеною здатністю посилювати виведення аміаку [12; 13]. У наших попередніх роботах було продемонстровано ефективність LOLA за гострого токсичного ураження печінки [14–15].

Введення L-орнітину L-аспартату призводить до достовірного збільшення глутатіону, що є наслідком двохетапної реакції трансамінування L-орнітину до глутамату, обов'язкового субстрату глутамінсинтетази [16]. Таким чином реалізується антиоксидантний ефект препарату. Ще один можливий механізм дії препарату пов'язаний із підвищенням рівня L-аргініну – субстрату для синтезу нітроген оксиду (NO) [15], що є основним маркером функціональної спроможності стану системи кровообігу. Після декарбоксилювання L-орнітин приймає участь у синтезі поліамінів. З'ясування зв'язку між ефектами L-орнітину L-аспартату та синтезом поліамінів за ураження печінки є надзвичайно актуальним, оскільки L-орнітин виступає як субстрат і регулятор цього процесу.

Мета дослідження – встановити роль синтезу поліамінів у механізмі протекторної дії L-орнітину L-аспартату за гострого гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 48 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях із вихідною масою 170–180 г. Усі піддослідні тварини були поділені на 4 групи: контроль, гепатит, LOLA, LOLA + DFMO.

Гострий токсичний гепатит моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням тетрахлорметану в розрахунку 2 г/кг маси тіла у вигляді 50%-го олійного розчину на оливковій олії [196]. Контрольна група тварин отримувала ідентичний об'єм оливкової олії. Препарат «ГЕПА-МЕРЦ» (LOLA, 0,5%-й розчин 10 мл, «Мерц Фарма ГмбХ і Ко.») вводили в дозі 200 мг/кг, а D, L- α дифторметилорнітин (Difluoromethylornithine, DFMO, Sigma, США) – по 25 мг/кг. LOLA та DFMO застосовували протягом 2 діб інтраперитонеально, один раз на добу. Дослідження проводили на 3-тю добу після моделювання гепатиту.

Декапітацію тварин проводили під кетаміновим наркозом (внутрішньоочеревинне введення з розрахунку 75 мг/кг маси тіла тварини). Матеріалом для дослідження були печінка, сироватка крові.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З метою вивчення впливу LOLA на синтез поліамінів за умов токсичного гепатиту піддослідним тваринам разом із LOLA вводили α -DFMO, який є незворотним інгібітором орнітин декарбоксилази (ОДЛ), першого і лімітуючого швидкість біосинтезу поліамінів ферменту.

Ефективність пригнічення синтезу поліамінів за введення DFMO оцінювали за концентрацією путресцину. Путресцин є попередником поліамінів спермідину та сперміну, який синтезується в печінці з амінокислоти L-орнітину за участі ферменту орнітиндекарбоксилази [6]. Згідно з даними Huang M. et al. [17], у разі гепатиту їх синтез вірогідно знижується.

Ми спостерігали виражене (на 22 %) зменшення вмісту путресцину в гомогенатах печінки після застосування CCl₄, однак застосування LOLA ефективно попередило втрату путресцинсинтезуючого потенціалу печінки.

Дані літератури свідчать, що з введенням амінокислот-попередників синтезу поліамінів, як-от аргінін, адеметіонін та орнітин, спостерігається не тільки підвищення синтезу спермідину та сперміну [18], а й покращення морфофункціонального стану печінки [19], що вказує на те, що гепатопротекторний ефект цих амінокислот може мати поліамінальний механізм.

За застосування DFMO вміст путресцину в печінці тварин із гепатитом, пролікованих LOLA, знизився майже на 64 % порівняно з такими ж тваринами без застосування DFMO та був майже на 40 % меншим, ніж у тварин із гепатитом без корекції, що свідчить про достовірне пригнічення синтезу поліамінів.

Через 3 доби після моделювання токсичного гепатиту спостерігалось виражене збільшення маси печінки в щурів, що було попереджене за допомогою LOLA. Введення DFMO інгібувало здатність LOLA попереджувати зростання маси печінки за наявності гепатиту, і її показник був на 28 % вищим, ніж у разі лікування LOLA за нормального синтезу поліамінів.

У тварин із гепатитом спостерігалось значне зростання активності амінотрансфераз, однак із застосуванням LOLA вона було достовірно нижчою. У разі ушкодження печінки збільшується гепатоцелюлярна проникність, через що АЛТ і АСТ вивільняються і проникають у плазму [20], тому LOLA, вірогідно, має потенціал у попередженні

синдрому цитолізу, що вже було описано раніше в наших попередніх публікаціях [14; 15]. Одночасне введення DFMO інгібувало здатність LOLA пригнічувати активність амінотрансфераз, що свідчить про поліамін-залежний механізм дії препарату в попередженні цитолізу.

Запалення, спричинене токсичним ураженням печінки, сприяє набряку гепатоцитів, що призводить до оклюзії жовчних протоків і накопичення в клітинах речовин, екскреція яких стає неможливою, через що вони потрапляють у системний кровотік. Унаслідок цих патологічних змін розвивається внутрішньопечінковий холестаза [21].

Введення тетрахлорметану щурам провокувало розвиток вираженого синдрому внутрішньопечінкового холестазу, про що свідчило значне підвищення активності лужної фосфатази (ЛФ) та гамма-глутаміл-трансферази (ГГТ). Холестаза, зі свого боку, сприяє зростанню концентрації всіх складових жовчі, у тому числі холестеролу й білірубину [21], що узгоджується з нашими результатами, адже спостерігалось виражене зростання вмісту загального білірубину (ЗБ) та загального холестеролу (ЗХ) у сироватці щурів. Лікування за допомогою LOLA сприяло зниженню активності ЛФ та ГГТ, пригнітивши їх на 64,2 і 41,2 %, та зменшенню концентрації ЗБ більш ніж удвічі, однак не вплинуло достовірно на вміст ЗБ. Зменшення проявів холестазу може бути обумовлено здатністю препарату покращувати процеси жовчовиділення [21]. Водночас застосування DFMO заблокувало здатність LOLA зменшувати активність ферментів та знижувати вміст ЗБ.

Отже, у разі блокування синтезу поліамінів втрачається здатність препарату LOLA попереджувати більшість симптомів, характерних для синдромів цитолізу та внутрішньопечінкового холестазу за гострого токсичного гепатиту.

Детоксикація потенційно шкідливих сполук, що потрапляють в організм або утворюються внаслідок біотрансформації як нутрієнтів, так і ксенобіотиків, є однією з найважливіших функцій печінки [21]. За гострого ураження печінки її детоксикаційна функція різко пригнічується внаслідок масивного некрозу гепатоцитів, що робить неможливою елімінацію токсичних іонів амонію з подальшим розвитком гіперамоніємії та енцефалопатії [12].

На 3-тю добу після моделювання токсичного гепатиту рівень сечовини в щурів був зменшений майже вдвічі порівняно з контролем, однак лікування LOLA сприяло більш ніж двократному зростанню її вмісту. Таке зниження рівня сечовини може бути пояснене пригніченням синтезуючої функції печінки на фоні збереженої видільної функції нирок. Оскільки LOLA посилює синтез сечовини в печінці, він може слугувати потужним засобом у попередженні печінкової енцефалопатії [23]. Одночасне застосування DFMO пригнітило здатність LOLA підтримувати здатність печінки синтезувати сечовину, що знову підтверджує критичну роль поліамінів у реалізації протективних властивостей лікарського засобу.

Печінка є місцем метаболізму вуглеводів, жирів і білків, де відбуваються їх синтез і розпад. Майже всі білки сироватки крові синтезуються гепатоцитами у фізіологічних умовах. У разі пошкодження печінки цей процес може бути порушений [21]. Індукування токсичного гепатиту викликало пригнічення білковосинтезуючої функції печінки, сприяючи зниженню концентрації загального білка у крові на 24 % та в печінці – на 25 %. Лікування препаратом LOLA призвело до достовірного збільшення концентрації загального білка на 26 % у крові та на 17 % у печінці, однак цей ефект нівелювався з введенням DFMO, що підтверджує роль поліамінів у регуляції білкового синтезу [24].

ВИСНОВКИ. Результати наших досліджень свідчать, що в гострий період після індукування токсичного гепатиту в щурів синтез путресцину, який є попередником поліамінів, пригнічується, проте корекція за допомогою LOLA покращує поліамінсинтезуючу функцію печінки. Застосування блокатора синтезу поліамінів DFMO реверсувало більшість ефектів LOLA у попередженні розвитку патологічних змін, зокрема процесів цитолізу та холестазу, і сприяло погіршенню синтезуючої функції печінки. Отримані нами результати можуть слугувати обґрунтуванням недоцільності застосування препаратів на основі орнітину й аргініну як гепатопротекторів за наявності гепатиту за умови різкого пригнічення синтезу поліамінів, наприклад у разі використання цитостатичних лікарських засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Terui Y., Yoshida T., Sakamoto A., Saito D., Oshima T., Kawazoe M., Kashiwagi K. Polyamines protect nucleic acids against depurination. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2018. Vol. 99. P. 147–153. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.04.008.
2. Amin M., Tang S., Shalamanova L., Taylor R.L., Wylie S., Abdullah B.M., Whitehead K.A. Polyamine biomarkers as indicators of human disease. *Biomarkers*. 2021. Vol. 26, No. 2. P. 77–94. DOI: 10.1080/1354750X.2021.1875506.
3. Bae D.H., Lane D.J., Jansson P.J., Richardson D.R. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2018. Vol. 1862, No. 9. P. 2053–2068. DOI: 10.1016/j.bbagen.2018.06.004.
4. Khan A., Gamble L.D., Upton D.H., Ung C., Yu D.M., Ehteda A., Ziegler D.S. Dual targeting of polyamine synthesis and uptake in diffuse intrinsic pontine gliomas. *Nature Communications*. 2021. Vol. 12, No. 1. P. 971. DOI: 10.1038/s41467-021-20896-z.
5. Gamble L.D., Purgato S., Murray J., Xiao L., Yu D.M., Hanssen K.M., Haber M. Inhibition of polyamine synthesis and uptake reduces tumor progression and prolongs survival in mouse models of neuroblastoma. *Science Translational Medicine*. 2019. Vol. 11, No. 477. P. eaau1099. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau1099.
6. Gamble L.D., Hogarty M.D., Liu X., Ziegler D.S., Marshall G., Norris M.D., & Haber M. Polyamine pathway inhibition as a novel therapeutic approach to treating neuroblastoma. *Frontiers in Oncology*. 2012. Vol. 2. P. 162. DOI: 10.3389/fonc.2012.00162.
7. Casero Jr R.A., Murray Stewart T., & Pegg A.E. Polyamine metabolism and cancer: treatments, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*. 2018. Vol. 18, No. 11. P. 681–695. DOI: 10.1038/s41568-018-0050-3.
8. Li J., Meng Y., Wu X., & Sun Y. Polyamines and related signaling pathways in cancer. *Cancer Cell International*. 2020. Vol. 20, No. 1. P. 539. DOI: 10.1186/s12935-020-01545-9.
9. Popović D., Kocić G., Katić V., Zarubica A., Janković Veličković L., Ničković V.P., Sokolović D. Anthocyanins protect hepatocytes against CCl₄-induced acute liver injury in rats by inhibiting pro-inflammatory mediators, polyamine catabolism, lipocalin-2, and excessive proliferation of Kupffer cells. *Antioxidants*. 2019. Vol. 8, No. 10. P. 451. DOI: 10.3390/antiox8100451.
10. Koike S., Kabuyama Y., Obeng K. A., Sugahara K., Sato Y., Yoshizawa F. An increase in liver polyamine concentration contributes to the tryptophan-induced acute stimulation of rat hepatic protein synthesis. *Nutrients*. 2020. Vol. 12, No. 9. P. 2665. DOI: 10.3390/nu12092665.
11. Butterworth R.F., Gruengreiff K. L-ornithine L-aspartate (LOLA) for the treatment of hepatic encephalopathy in cirrhosis: evidence for novel hepatoprotective mechanisms. *Journal of Liver and Clinical Research*. 2018. Vol. 5, No. 1. P. 1044. URL: <https://www.jsmedcentral.com/journal-article-pdf/Journal-of-Liver-and-Clinical-Research-liver-5-1044.pdf>.
12. Kircheis G., Leth S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of L-ornithine L-aspartate (LOLA) in hepatic encephalopathy. *Drugs*. 2019. Vol. 79, Suppl 1. P. 23–29. DOI: 10.1007/s40265-018-1023-2.
13. Goh E.T., Stokes C.S., Sidhu S.S., Vilstrup H., Gluud L.L., Morgan M.Y. L-ornithine L-aspartate for prevention and treatment of hepatic encephalopathy in people with cirrhosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018. Vol. 5. P. CD012410. DOI: 10.1002/14651858.CD012410.pub2.
14. Oleshchuk O.M., Datsko V.A., Loi H.Y., Datsko T.V., Mudra A.Y., Malanchuk S.L., Fedoniuk L.Y. Hepatoprotective effects of L-ornithine-L-aspartate in toxic liver injury. *Pharmacology Online*. 2021. Vol. 3. P. 146–155. URL: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85130765272&origin=recordpage>.
15. Datsko V., Loi H., Datsko T., Mudra A., Mykolenko A., Golovata T., Oleshchuk O. Nitric oxide-mediated effects of L-ornithine-L-aspartate in acute toxic liver injury. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69. P. 527–534. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e83067.
16. Jain A., Sharma B.C., Mahajan B., Srivastava S., Kumar A., Sachdeva S., Dalal A. L-ornithine L-aspartate in acute treatment of severe hepatic encephalopathy: a double-blind randomized controlled trial. *Hepatology*. 2022. Vol. 75, No. 5. P. 1194–1203. DOI: 10.1002/hep.32255.
17. Huang M., Zhang W., Chen H., Zeng J. Targeting polyamine metabolism for control of human viral diseases. *Infection and Drug Resistance*. 2020. Vol. 3. P. 4335–4346. DOI: 10.2147/IDR.S262024.
18. Sens D.A., Levine J.H., Buse M.G. Stimulation of hepatic and renal ornithine decarboxylase activity by selected amino acids. *Metabolism*. 1983. Vol. 32, No. 8. P. 787–792. DOI: 10.1016/0026-0495(83)90108-7.
19. Saigal S., Kapoor D., Roy D. S. Ademetionine in patients with liver disease: a review. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 2019. Vol. 7, No. 6. P. 2482–2493. DOI: 10.18203/2320-6012.ijrms20192550.
20. Lescot T., Karvellas C., Beaussier M., Magder S. Acquired liver injury in the intensive care unit. *Anesthesiology*. 2012. Vol. 117, No. 4. P. 898–904. DOI: 10.1097/ALN.0b013e318266c6df.
21. Rothuizen J. Important clinical syndromes associated with liver disease. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 2009. Vol. 39, No. 3. P. 419–437. DOI: 10.1016/j.cvsm.2009.02.007.
22. Allouche L., Hamadouche M., Touabti A., Khenouf S. Effect of long-term exposure to low or moderate lead concentrations on growth, lipid profile and liver function in albino rats. *Advances in Biological Research*. 2011. Vol. 5, No. 6. P. 339–347.
23. Ytrehus L.M., Kristiansen R.G., Mxhre H., Fuskeveg O.M., Kalstad T., Revhaug A., Rose C.F. L-ornithine phenylacetate attenuates increased arterial and extracellular brain ammonia and prevents intracranial hypertension in pigs with acute liver failure. *Hepatology*. 2009. Vol. 50, No. 1. P. 165–174. DOI: 10.1002/hep.22917.
24. Kashiwagi K., Terui Y., Igarashi K. Modulation of protein synthesis by polyamines in mammalian cells. *Polyamines: Methods and Protocols*. 2018. Vol. 1694. P. 325–336. DOI: 10.1007/978-1-4939-7398-9_27.

REFERENCES

1. Terui, Y., Yoshida, T., Sakamoto, A., Saito, D., Oshima, T., Kawazoe, M., ... & Kashiwagi, K. (2018). Polyamines protect nucleic acids against depurination. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 99, 147153. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.04.008
2. Amin, M., Tang, S., Shalamanova, L., Taylor, R.L., Wylie, S., Abdullah, B.M., & Whitehead, K.A. (2021). Polyamine biomarkers as indicators of human disease. *Biomarkers*, 26 (2), 7794. DOI: 10.1080/1354750X.2021.1875506.
3. Bae, D.H., Lane, D.J., Jansson, P.J., & Richardson, D.R. (2018). The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1862 (9), 2053–2068. DOI: 10.1016/j.bbagen.2018.06.004.
4. Khan, A., Gamble, L.D., Upton, D.H., Ung, C., Yu, D.M., Ehteda, A., ... & Ziegler, D.S. (2021). Dual targeting of polyamine synthesis and uptake in diffuse intrinsic pontine gliomas. *Nature communications*, 12 (1), 971. DOI: 10.1038/s41467-021-20896-z.
5. Gamble, L.D., Purgato, S., Murray, J., Xiao, L., Yu, D.M., Hanssen, K.M., ... & Haber, M. (2019). Inhibition of polyamine synthesis and uptake reduces tumor progression and prolongs survival in mouse models of neuroblastoma. *Science Translational Medicine*, 11 (477), eaau1099. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau1099.
6. Gamble, L.D., Hogarty, M.D., Liu, X., Ziegler, D.S., Marshall, G., Norris, M.D., & Haber, M. (2012). Polyamine pathway inhibition as a novel therapeutic approach to treating neuroblastoma. *Frontiers in oncology*, 2, 162. DOI: 10.3389/fonc.2012.00162.
7. Casero Jr, R.A., Murray Stewart, T., & Pegg, A.E. (2018). Polyamine metabolism and cancer: treatments, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, 18 (11), 681–695. DOI: 10.1038/s41568-018-0050-3.
8. Li, J., Meng, Y., Wu, X., & Sun, Y. (2020). Polyamines and related signaling pathways in cancer. *Cancer cell international*, 20 (1), 539. DOI: 10.1186/s12935-020-01545-9.
9. Popović, D., Kocić, G., Katić, V., Zarubica, A., Janković Veličković, L., Ničković, V. P., ... & Sokolović, D. (2019). Anthocyanins protect hepatocytes against CCl₄-induced acute liver injury in rats by inhibiting pro-inflammatory mediators, polyamine catabolism, lipocalin-2, and excessive proliferation of Kupffer cells. *Antioxidants*, 8 (10), 451. DOI: 10.3390/antiox8100451.
10. Koike, S., Kabuyama, Y., Obeng, K.A., Sugahara, K., Sato, Y., & Yoshizawa, F. (2020). An increase in liver polyamine concentration contributes to the tryptophan-induced acute stimulation of rat hepatic protein synthesis. *Nutrients*, 12 (9), 2665. DOI: 10.3390/nu12092665.
11. Butterworth, R.F., & Gruengreiff, K. (2018). L-ornithine L-aspartate (LOLA) for the treatment of hepatic encephalopathy in cirrhosis: evidence for novel hepatoprotective mechanisms. *J Liver Clin Res*, 5 (1), 1044. URL: <https://www.jscimedcentral.com/journal-article-pdf/Journal-of-Liver-and-Clinical-Research-/liver-5-1044.pdf>.
12. Kircheis, G., & Leth, S. (2019). Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of L-ornithine L-aspartate (LOLA) in hepatic encephalopathy. *Drugs*, 79 (Suppl 1), 23–29. DOI: 10.1007/s40265-018-1023-2.
13. Goh, E.T., Stokes, C.S., Sidhu, S.S., Vilstrup, H., Gluud, L.L., & Morgan, M.Y. (2018). L-ornithine L-aspartate for prevention and treatment of hepatic encephalopathy in people with cirrhosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5, 100. DOI: 10.1002/14651858.CD012410.pub2.
14. Oleshchuk, O.M., Datsko, V.A., Loi, H.Y., Datsko, T.V., Mudra, A.Y., Malanchuk, S.L., & Fedoniuk, L.Y. (2021). Hepatoprotective effects of L-ornithine-L-aspartate in toxic liver injury. *Pharmacology Online*, 3, 146–155. DOI: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85130765272&origin=recordpage>.
15. Datsko, V., Loi, H., Datsko, T., Mudra, A., Mykolenko, A., Golovata, T., ... & Oleshchuk, O. (2022). Nitric oxide-mediated effects of L-ornithine-L-aspartate in acute toxic liver injury. *Pharmacia*, 69, 527–534. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e83067.
16. Jain, A., Sharma, B.C., Mahajan, B., Srivastava, S., Kumar, A., Sachdeva, S., ... & Dalal, A. (2022). L-ornithine l-aspartate in acute treatment of severe hepatic encephalopathy: a double-blind randomized controlled trial. *Hepatology*, 75 (5), 1194–1203. DOI: 10.1002/hep.32255.
17. Huang, M., Zhang, W., Chen, H., & Zeng, J. (2020). Targeting polyamine metabolism for control of human viral diseases. *Infection and drug resistance*, 3, 4335–4346. DOI: 10.2147/IDR.S262024.
18. Sens, D.A., Levine, J.H., & Buse, M.G. (1983). Stimulation of hepatic and renal ornithine decarboxylase activity by selected amino acids. *Metabolism*, 32 (8), 787–792. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(83\)90108-7](https://doi.org/10.1016/0026-0495(83)90108-7).
19. Saigal, S., Kapoor, D., & Roy, D.S. (2019). Ademetionine in patients with liver disease: a review. *Int J Res Med Sci*, 7 (6), 2482–2493. DOI: 10.18203/2320-6012.ijrms20192550.
20. Lescot, T., Karvellas, C., Beaussier, M., & Magder, S. (2012). Acquired liver injury in the intensive care unit. *Anesthesiology*, 117 (4), 898–904. DOI: 10.1097/ALN.0b013e318266c6df.
21. Rothuizen, J. (2009). Important clinical syndromes associated with liver disease. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 39 (3), 419–437. DOI: 10.1016/j.cvs.2009.02.007.
22. Allouche, L., Hamadouche, M., Touabti, A., & Khennouf, S. (2011). Effect of long-term exposure to low or moderate lead concentrations on growth, lipid profile and liver function in albino rats. *Advances in biological research*, 5 (6), 339–347.
23. Ytrebush, L.M., Kristiansen, R.G., Mjhre, H., Fuskeveg, O.M., Kalstad, T., Revhaug, A., ... & Rose, C.F. (2009). L-ornithine phenylacetate attenuates increased arterial and extracellular brain ammonia and prevents intracranial hypertension in pigs with acute liver failure. *Hepatology*, 50 (1), 165–174. DOI: 10.1002/hep.22917.
24. Kashiwagi, K., Terui, Y., & Igarashi, K. (2018). Modulation of protein synthesis by polyamines in mammalian cells. *Polyamines: Methods and Protocols*, 1694, 325–336. DOI: 10.1007/978-1-4939-7398-9_27.

Адреса для листування: loy@tdmu.edu.ua

SYNTHESIS OF POLYAMINES IN TOXIC HEPATITIS AS A PREDICTOR OF THE PROTECTIVE EFFECT OF L-ORNITHINE L-ASPARTATE

Summary

Introduction. Polyamines are involved in many fundamental processes of cell growth and survival. Intracellular levels of polyamines depend on the activity of biosynthetic and catabolic enzymes and the status of transporters. Their synthesis is impaired under conditions of liver damage. L-ornithine L-aspartate (LOLA) is a mixture of endogenous amino acids with proven hepatoprotective effects. After decarboxylation, L-ornithine participates in the synthesis of polyamines and acts as a regulator of this process.

The aim of the study is to establish the role of polyamine synthesis in the mechanism of the protective effect of L-ornithine L-aspartate in acute hepatitis.

Research methods. The study was conducted on 48 white sexually mature non-linear male rats with an initial weight of 170–180 g. Acute toxic hepatitis was induced by a single intraperitoneal injection of tetrachloromethane at a dose 2 g/kg as a 50% oil solution. LOLA was administered at a dose of 200 mg/kg, and D, L - α difluoromethylornithine (DFMO) – 25 mg/kg for 2 days intraperitoneally, once a day. The study was carried out on the 3rd day after hepatitis modeling. The material for the study was liver, blood serum.

Results and discussion. The following changes were observed in animals with acute toxic hepatitis: a reduction in the content of putrescine in liver homogenates, a pronounced augmentation in liver mass, an increase in the activity of aminotransferases, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase, a raise in the content of total bilirubin and total cholesterol in serum and a decrease in the concentrations of urea and total protein in the blood and in the liver. Correction with LOLA contributed to the prevention of the development of cytolysis and cholestasis, improved the synthetic function of the liver. The use of DFMO reversed all of the listed effects of LOLA.

Conclusions. In acute toxic hepatitis in rats, polyamine synthesis is suppressed, but correction with LOLA improves the polyamine-synthesizing function of the liver. The use of the polyamine synthesis blocker DFMO reversed most of the effects of LOLA in preventing the development of pathological changes, in particular, the processes of cytolysis and cholestasis, and contributed to the deterioration of the synthetic function of the liver, which indicates a polyamine-dependent mechanism of the protective effect of L-ornithine L-aspartate in acute hepatitis.

KEY WORDS: polyamines; L-ornithine L-aspartate; hepatoprotector; hepatitis; cytolysis; cholestasis.