

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ГЛИКОЛИЗА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У КРЫС

О.М. Балаева-Тихомирова, Л.А. Крумплевская
Витебский государственный университет, tanyatolkachova@mail.ru

Введение. В 1998г. Американская диабетологическая ассоциация опубликовала определение понятия «инсулинорезистентность» (ИР), которое с тех пор остается общепризнанным. ИР рассматривается как нарушение биологического (метаболического и молекулярно-генетического) ответа на инсулин (экзогенный и эндогенный), нарушение метаболизма углеводов, жиров, белков, изменение синтеза ДНК, транскрипции генов). Наибольшее клиническое значение имеет потеря чувствительности к инсулину мышечной, жировой и печеночной тканей [1].

В настоящее время существуют нефармакологические и фармакологические методы коррекции ИР. К нефармакологическим методам относятся низкокалорийная диета и физические нагрузки. С конца 50-х годов фармацевтическая промышленность всего мира работает над созданием препаратов, устраняющих ИР, повышающих чувствительность к инсулину, антиоксидантных средств, гепатопротекторов [2]. В связи с этим, исследования, связанные с изучением особенностей метаболизма при развитии ИР и их профилактика, являются актуальными.

Начиная с 2005 г. на кафедре химии Витебского государственного университета им. П.М. Машерова проводятся исследования химического состава и биологического действия экстракта куколок дубового шелкопряда (ЭКДШ). Установлено, что ЭКДШ обладает антиоксидантным действием [3], снижает проявления стеатогепатоза при развитии ИР [4].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния ЭКДШ на активность ферментов гликолиза при моделировании ИР у крыс.

Материалы и методы исследования. Для воспроизведения ИР использовалось содержание животных на высокожировой диете (ВЖД) по Либери-Де Карли (Liber-De Carli). Для эксперимента использовали крыс-самок, находящихся перед этим на стандартном рационе вивария. После двухнедельной адаптации животные были введены в опыт и разделены на следующие пять групп: 1 группа – контроль вивария (интактные крысы) (n=10); 2 группа – воспроизведение ИР путем кормления животных ВЖД 2 месяца (n=10); 3 группа – воспроизведение ИР путем кормления животных ВЖД 3 месяца (n=10); 4 группа – воспроизведение ИР путем кормления животных ВЖД 3 месяца с введением водного ЭКДШ в дозе 7 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела внутривентрикулярно ежедневно в течение последнего месяца ВЖД (n=9); 5 группа – воспроизведение ИР путем кормления животных ВЖД 3 месяца с введением водного ЭКДШ в дозе 70 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела внутривентрикулярно ежедневно в течение последнего месяца ВЖД (n=10).

Активность ферментов гликолиза обмена определяли в микросомально-цитоплазматической фракции полученной центрифугированием гомогенатов при 6000 об/мин. Гомогенаты готовили при 2-4 °С на растворе, содержащем 0,05 М Трис-НСl, 0,15 М хлорид калия и 0,001 М ЭДТА (рН 7,8). В ткани печени определяли активность фосфофруктокиназы (ФФК) (КФ 2.7.1.11) [5, 6], альдолазы фруктозо-1,6-бисфосфата (КФ 4.1.2.6) (альдолаза Ф-1,6-БФ) [7], пируватдегидрогеназы (ПДГ) (КФ 1.2.4.1) и α -кетоглутаратдегидрогеназы (α -КГДГ) (КФ 1.2.4.2) [8].

Результаты и их обсуждение. Снижение активности ФФК и альдолазы Ф-1,6-БФ при развитии ИР свидетельствует об ингибировании гликолиза (таблица 1). Применение ЭКДШ в обеих дозах достоверно увеличило активность данных ферментов по сравнению с активностью ферментов у животных, кормленных ВДЖ, но не до уровня интактных животных.

Таблица 1 – Активность ФФК (мкмоль диоксиацетонфосфата·г⁻¹·мин⁻¹), альдолазы Ф-1,6-БФ (мкмоль диоксиацетонфосфата·г⁻¹·мин⁻¹), ПДГ (ммкмоль феррицианида·г⁻¹·мин⁻¹), α-КГДГ (ммкмоль феррицианида·г⁻¹·мин⁻¹) в печени крыс при моделировании ИР и применении ЭКДШ ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Ферменты	Группы животных				
	1	2	3	4	5
ФФК	29,21±5,47	8,13±2,39 ¹	6,19±0,84 ^{1,2}	8,47±1,42 ^{1,3}	7,97±1,85 ^{1,3}
Альдолаза	114,21±35,59	38,13±16,57 ¹	47,04±9,06 ¹	73,83±34,55 ^{1,2,3}	87,72±38,55 ^{2,3}
ПДГ	143,22±63,65	133,53±31,88	270,33±52,21 ¹	153,24±76,46 ³	195,31±92,78 ³
α-КГДГ	193,42±66,02	99,83±48,92 ¹	118,17±37,56 ¹	145,11±65,05 ³	110,57±33,27 ¹

Примечание – P < 0,05: ¹ - по сравнению с группой 1; ² – по сравнению с группой 2; ³ – по сравнению с группой 3

Однако у животных, кормленных ВЖД в течение 3-х месяцев, обнаружено повышение активности ПДГ, что, возможно, вызывает накопление ацетил-КоА, используемого для синтеза жирных кислот и триацилглицеролов, обуславливающих развитие стеатогепатоза при ИР [9]. Следствием снижения уровня пирувата при ингибировании гликолиза может быть дефицит щавелевоуксусной кислоты, образующейся при карбоксилировании пирувата. Это приводит к уменьшению функционирования ЦТК и подтверждается снижением активности α-КГДГ при развитии ИР. Выявлен нормализующий эффект ЭКДШ в обеих дозах на активность ПДГ и в дозе 7 мкг свободных аминокислот на 100 г массы тела на активность α-КГДГ.

Выводы. 1) высокожировая диета вызывает развитие ИР, что сопровождается снижением активности ферментов гликолиза;

2) ЭКДШ в дозах 7 и 70 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела способствует нормализации активности ферментов гликолиза, пируватдегидрогеназы и α-кетоглутаратдегидрогеназы;

3) механизм позитивного эффекта ЭКДШ в дозе 70 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела может быть обусловлен антиоксидантным действием и дополнительным поступлением субстратов метаболизма – аминокислот и витаминов. При малой дозе (7 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела) действие возможно связано с взаимодействием компонентов экстракта со специфическими участками мембран и изменением физико-химических свойств воды [10].

Литература:

1. Ожирение: этиология, патогенез. Клинические аспекты / Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – С. 44-62.
2. Kadayifci A., Merriman R.B., Bass N.M. Medical treatment of non-alcoholic steatohepatitis // *Clinics in Liver Disease*, 2007. – Vol. 11, №1. – P. 119-140.
3. Чиркин А.А. Антиоксидантная активность куколок китайского дубового шелкопряда / А.А. Чиркин, Е.И. Коваленко, В.М.Шейбак // *Ученые записки «УО ВГУ им. П.М.Машерова»*, 2007. Том 6. – с. 247-265.
4. Балаева-Тихомирова, О.М. Эффект водного экстракта куколок дубового шелкопряда на обмен липидов при моделировании инсулинорезистентности у крыс /О.М. Балаева-Тихомирова, Л.А. Крумплевская // Юбилейная научно-практической конференция 11 июня 2009 г.– Гомель: ГГУ им. Ф. Скарныны, 2009. – С.217-218.
5. Куликова А.И. Активность фосфофруктокиназы скелетных мышц и сердца крыс при гемической гипоксии // *Вопр. мед. химии*, 1966. - Т. 12, № 2. - С. 196-199.
6. Racker E. Spectrophotometric measurement of hexokinase and phosphohexokinase activity // *J. Biol. Chem.*, 1947. – Vol. 167, № 3. – P. 843-853.
7. Товарницкий В.И. Метод определения альдолазы в сыворотке крови // *Современные методы в биохимии. «Медицина»*. – М., 1964. - Т. I. – С. 303-310.
8. Gubler C.J. Studies on the physiological functions of thiamine. I. The effects thiamine deficiency and thiamine antagonists on the oxidation of α-keto acids by rat tissues // *J. Biol. Chem.*, 1961. – Vol. 236, № 12. – Vol. 3112-3120.
9. Fabbrini E., Mohammed B.S., Magkos F. et al. Alterations in adipose tissue and hepatic lipid kinetics in obese men and women with nonalcoholic fatty liver disease // *Gastroenterology*, 2008. – Vol. 134, №2. – P. 424-431
10. Пальмина Н.П. Механизм действия сверхмалых доз // *Химия и жизнь – XXI век*, 2009. - № 2. – С. 10-13.