



Национальная академия наук Беларуси
Институт биофизики и клеточной инженерии
Министерство образования Республики Беларусь
Белорусский государственный университет
Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, МЕМБРАННЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОСИСТЕМ

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ

ДЕВЯТЫЙ СЪЕЗД БЕЛОРУССКОГО
ОБЩЕСТВЕННОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ
ФОТОБИОЛОГОВ И БИОФИЗИКОВ

23—25 июня 2010 г., Минск, Беларусь

СБОРНИК СТАТЕЙ
В двух частях

Часть 2

Минск
«Издательский центр БГУ»
2010

Национальная
библиотека
Беларуси

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ В РАЗВИТИИ ДИАБЕТА. ЭФФЕКТЫ СУКЦИНАТА И МЕЛАТОНИНА

В.Т. Чешеви́к¹, И.К. Дремза¹, Е.А. Лапшина¹, С.В. Забродская¹,
Г.Н. Семенкова³, Т.А. Кулагова³, И.Б. Заводник^{1,2}

¹Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии
НАН Беларуси», Гродно, Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно,
Беларусь

³Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Регуляция клеточного метаболизма во многом определяется функциональной активностью митохондрий, выступающих не только важнейшим источником энергетических эквивалентов в клетке, но и мишенью, коммутатором и декодером клеточных сигналов. Нарушения митохондриальной физиологии, приводящие к резистентности к инсулину и диабетическим осложнениям, связаны с генетическими факторами, окислительным стрессом, нарушением биогенеза митохондрий, старением. В основе гомеостаза глюкозы, обеспечиваемого метаболическими эффектами инсулина и включающего рост поглощения глюкозы скелетной мускулатурой и подавление продукции глюкозы в печени, лежат два «зеркальных» клеточных сигнальных каскада: инсулин-зависимое поглощение глюкозы (IMGU, insuline-mediated glucose uptake) в клетках мышечной ткани, печени, сердца и стимулируемая глюкозой секреция инсулина (GSIS, glucose-stimulated insulin secretion) в панкреатических β -клетках. Важнейшие элементы стимулируемой глюкозой секреции инсулина панкреатическими β -клетками включают: поступление глюкозы в клетку посредством транспортера глюкозы с высоким K_m ; фосфорилирование глюкозы представителями семейства гексокиназ (глюкокиназ) с высоким K_m ; рост отношения АТФ/АДР; закрытие АТФ-чувствительных K^+ -каналов клеточной мембраны; деполаризация мембраны; открытие потенциал-чувствительных Ca^{2+} -каналов, поступление в клетку ионов Ca^{2+} , что включает освобождение инсулина [1].

Фосфорилирование остатков серина белков IRS – $\frac{1}{2}$ (субстрат рецептора инсулина – $\frac{1}{2}$) приводит к резистентности к инсулину, благодаря уменьшению активности инсулин-зависимого сигнального каскада, в том числе за счет инактивации таких молекул как PI3K, Akt, PKC ξ , что в результате приводит к уменьшению поглощения глюкозы клетками, возрастанию продукции глюкозы, уменьшению секреции инсулина, уменьшению вазодилатации [2].

Нарушения гомеостаза глюкозы и развивающаяся гипергликемия лежат в основе поражения тканей при диабете – сложной, полифункциональной патологии, одной из наиболее распространенных в

современном обществе [2]. M. Brownlee сформулировал положение об определяющей роли окислительного стресса в развитии диабета в виде гипотезы об унифицирующем механизме (a unifying mechanism), согласно которой дисфункция митохондрий и гиперпродукция супероксиданион-радикалов митохондриями представляет основной механизм активации основных путей повреждения тканей при диабете, связанных с гипергликемией [3].

В настоящей работе мы оценили роль окислительного стресса и митохондриальных нарушений в развитии диабета и возможность метаболической коррекции биоэнергетики клетки фармакологическими дозами сукцината и мелатонина. Экспериментальный стрептозотоцин-индуцируемый диабет у крыс (30 дней) приводил к выраженному нарушению функциональной активности изолированных митохондрий клеток печени. Скорость базального (эндогенного) потребления кислорода (V_1) уменьшалась на 15-20%. В случае сукцината, используемого в качестве респираторного субстрата, скорость субстрат-зависимого дыхания (V_2) и скорость дыхания после фосфорилирования АДФ (V_4) не изменялись, но скорость АДФ-стимулированного дыхания (V_3) уменьшалась на 24% ($p < 0,05$). Соответственно, значения коэффициентов акцепторного (V_3/V_2) и дыхательного контроля (V_3/V_4), также значительно уменьшались (на 25%, $p < 0,01$ и на 27%, $p < 0,01$, соответственно). В случае глутамата, как дыхательного субстрата, скорость потребления кислорода митохондриями печени V_2 уменьшалась на 20%, скорость АДФ-стимулированного дыхания (V_3) уменьшалась более существенно (на 35%, $p < 0,05$) и не изменялась величина скорости V_4 . Обращает на себя внимание тот факт, что коэффициент фосфорилирования (АДФ/О) не изменялся при диабетическом поражении печени, свидетельствуя, вероятно, о сохранении эффективности потребления кислорода митохондриями печени при диабете, несмотря на повреждение компонентов дыхательной цепи. Введение мелатонина (10 мг/кг массы тела, в/б), как и сукцината (50 мг/кг массы тела, в/б) в течение 30 дней диабетическим животным существенно повышало скорость дыхания V_3 в случае сукцинат- и глутамат-зависимого дыхания ($p < 0,05$ по сравнению с диабетическими животными). Соответственно, значения коэффициентов акцепторного и дыхательного контроля для диабетических животных, получавших мелатонин или сукцинат, не отличались от таковых для контрольных животных, а коэффициент АДФ/О повышался относительно групп контроля и диабета, свидетельствуя о повышении эффективности фосфорилирования в митохондриях.

Нарушения митохондриальной респираторной активности можно рассматривать как одно из центральных проявлений диабетического поражения клеток печени. В нашем эксперименте введение мелатонина и сукцината в фармакологической дозе животным при диабете предотвращало развитие дисфункции митохондрий клеток печени, демонстрируя специфическую митохондриальную активность эффекторов. Более того,

введение мелатонина при диабете в течение 30 дней несколько уменьшало уровень глюкозы и гликозилированного гемоглобина в плазме крови без существенных изменений величины митохондриального мембранного потенциала, уровней внутримитохондриального восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп митохондриальных белков и содержания смешанных дисульфидов глутатиона с митохондриальными белками. Эффекты мелатонина связаны, вероятно, с его свойствами прямого и непрямого антиоксиданта, со специфическим взаимодействием с комплексами дыхательной цепи митохондрий. Сукцинат, биоэнергетический субстрат, способен, как недавно продемонстрировано, выступать специфическим лигандом орфаных рецепторов, сопряженных с G-белком [He et al.] и тем самым, выполнять сигнальную функцию. Наши результаты демонстрируют, что мелатонин и сукцинат, специфически регулируя функциональную активность митохондрий, обладают терапевтическим потенциалом как корректоры диабетического повреждения печени.

Литература

1. Newsholme P. et al. Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity. // *J. Physiol.* 2007. V.583, № 1. P. 9-24.
2. Rosen P. et al. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series // *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2001. V.17. P.189-212.
3. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism // *Diabetes.* 2005. V.54. P.1615-1625.
4. He W. et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors // *Nature* 2004. V.429. P.188-193.