

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

О.М. Балаева-Тихомирова, аспирант

Л.А. Крумплевская, 5 курс

Витебский государственный университет им. П.М. Машерова

Инсулинорезистентность (ИР) представляет собой нарушенный биологический ответ периферических тканей организма на воздействие эндогенного и экзогенного инсулина.

ИР является критичным фактором развития неалкогольного жирового повреждения печени (неалкогольный стеатогепатоз). Неалкогольный стеатогепатоз включает широкий спектр повреждения печени: простой стеатоз – стеатогепатит – прогрессирующий фиброз – цирроз – гепатоклеточный рак. Стратегия коррекции ИР и неалкогольного стеатогепатоза заключается в снижении массы тела, использовании препаратов, повышающих чувствительность к инсулину, антиоксидантных средств, гепатопротекторов. Однако, поиск новых средств для профилактики и коррекции ИР

продолжается. В связи с этим, исследования, связанные с изучением особенностей метаболизма при развитии ИР и ее профилактика, являются актуальными.

Целью работы было изучение активности ферментов пентозофосфатного пути при моделировании инсулинорезистентности.

Материалы и методы исследования. Для воспроизведения ИР использовалось содержание крыс на высокожировой диете (ВЖД) по Либери-Де Карли (Liber-De Carli). Для создания ВЖД к базовой диете добавляли кукурузное масло в количестве 40 г на 1кг диеты. Жидкую диету давали животным в бутылках, снабженными особыми крышками, без ограничений. Потребление пищи животными ежедневно регистрировалось. Для коррекции ИР у крыс был использован экстракт куколок дубового шелкопряда (ЭКДШ). Известно, что в гемолимфе куколок дубового шелкопряда, находящихся в диапаузе 7-8 месяцев, содержатся вещества, необходимые для формирования эукариотического организма – бабочки, а также вещества, обеспечивающие антиоксидантное и другое защитное действие, что препятствует повреждению молекул, из которых формируется новый организм бабочки. Показана низкая токсичность водорастворимых экстрактов из гемолимфы куколок дубового шелкопряда, антиаллергенная активность, противоопухолевая активность, адаптогенная активность. Установлено, что экстракт куколок дубового шелкопряда содержит жиро- и водорастворимые витамины, набор аминокислот, обладает антиоксидантным действием [1].

Животные были разделены на пять групп: 1 группа – воспроизведение ИР, ВЖД 2 месяца (n=10); 2 группа – ИР, ВЖД 3 месяца с введением препарата водного ЭКДШ в дозе 7 мкг свободных аминокислот на 100 г массы тела внутривентрикулярно ежедневно в течение последнего месяца эксперимента на фоне ВЖД (n=10); 3 группа – ИР, ВЖД 3 месяца с введением препарата водного ЭКДШ в дозе 70 мкг свободных аминокислот на 100 г массы тела внутривентрикулярно ежедневно в течение последнего месяца эксперимента на фоне ВЖД (n=9); 4 группа – воспроизведение ИР, ВЖД 3 месяца (n=10); 5 группа – контроль вивария (интактные крысы) (n=10).

В ткани печени были определены активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) (КФ 1.1.1.49) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГДГ) (КФ 1.1.1.43) [2], рибозо-5-фосфат метаболизирующих ферментов (Р-5-ФМФ) по убыви рибозо-5-фосфата [3, 4], транскетолазы (ТК) по прибыли седогептулозо-7-фосфата (КФ 2.2.1.1) [5, 6].

Результаты и их обсуждение. Инсулин стимулирует интенсивность пентозофосфатного пути (ПФП) распада глюкозы за счет индукции синтеза Г-6-ФДГ. Как следует из таблицы 1, при развитии ИР отмечалось снижение активности Г-6-ФДГ и 6-ФГДГ, в результате действия которых образуется НАДФН, необходимый для синтеза холестерина и высших жирных кислот. Возможно, это позволяет сберечь Г-6-Ф для процесса гликолиза. Применение ЭКДШ не изменило активность исследуемых ферментов.

Таблица – Активность ТК (мкмоль седогептулозо-7-фосфата·г⁻¹·мин⁻¹), Р-5-ФМФ (мкмоль рибозо-5-фосфата·г⁻¹·мин⁻¹), Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ (мкмоль НАДФ·г⁻¹·ч⁻¹) в печени крыс при моделировании ИР и применении ЭКДШ ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Ферменты	Группы животных				
	1	2	3	4	5
Г-6-ФДГ	163,7±60,6	51,52±22,7 ¹	47,23±35,3 ¹	37,38±18,8 ¹	48,80±34,8 ¹
6-ФГДГ	156,9±28,3	114,1±31,6 ¹	78,1±21,8 ¹	86,4 ±39,4 ¹	91,2 ±24,0 ¹
Р-5-ФМФ	4,04±1,59	2,46±0,81 ^{1,3}	6,02±1,47 ^{1,3}	4,59±1,19 ^{2,3}	3,14±1,43 ³
ТК	2,32±0,82	2,65±0,96	4,93±1,68 ¹	3,00±0,50 ³	2,31±0,97 ³

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

При кормлении животных ВЖД в течение 2-х месяцев снижалась активность Р-5-ФМФ в 1,6 раза и не изменялась активность ТК. Через 3 месяца диеты отмечено увеличение активности Р-5-ФМФ и ТК в 1,5 и 2,1 раза, соответственно. Активация неокислительной ветви пентозофосфатного пути при развитии ИР может являться дополнительным источником глицеральдегид-3-фосфата, используемого в гликолизе. ЭКДШ в обеих применяемых дозах оказывал нормализующее влияние на активность Р-5-ФМФ и ТК в печени крыс.

Выводы: 1) ВЖД вызывает развитие ИР, что сопровождается нарушением активности ферментов ПФП - снижение активности ферментов окислительной ветви и повышение активности ферментов неокислительной ветви;

2) ЭКДШ в дозах 7 и 70 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела способствует нормализации активности ферментов неокислительной ветви ПФП и не влияет на активность ферментов окислительной ветви ПФП;

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.

Список использованных источников

1. 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.
2. Захарьин Ю.Л. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы // Лаб. дело, 1967. - № 6. - С. 327-330.
3. Каразе А.М. и др. Влияние инсулина на активность транскетолазы и трансальдолазы в печени крыс // Биохимия, 1973. - Т. 38, № 3. - С. 515-519.
4. Шатинскене Р.-М.Р., Колотилова А.И. Влияние тироксина на ферменты пентозо-фосфатного пути обмена углеводов в сердечной мышце // Вопр. мед. химии, 1970. – Т. 16, № 5. – С. 491-498.
5. Головацкий И.Д. Мікрометод одночасного визначення гептулози і пентоз та деякі особливості обміну цих сполук в тканинах тварин // Укр. біохім. журн., 1965. - № 6. - С. 927-934.
6. Bruns F.N. Über den Stoffwechsel von Ribose-5-phosphat in Hämolysaten. III. Quantitative Bestimmung von Sedoheptulose-7-phosphat und einige Eigenschaften der Transketolase der Erythrozyten und des Blutserums // Biochem. Ztschr., 1958. – Vol. 330. – P. 497-508.