

УДК 577.112.4:598/599

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРІНСУЛІНЕМІЇ

Нікольська В.О.

*Таврійський національний університет ім. В.І. Вернадського, Сімферополь, Україна
E-mail: victoria_nikol@crimea.edu*

При експериментальній гіперінсулінемії спостерігається підвищення вмісту молекул середньої маси в сироватці крові лабораторних щурів. Методом визначення окислювальної модифікації білків встановлена активація перекисних процесів в сироватці крові з утворенням альдегідних і кетонних продуктів нейтрального і основного характеру. Купірування гіперінсулінемії глюкозою дозволяє знизити показники окислених продуктів.

Ключові слова: гіперінсулінемія, сироватка крові, окислювальна модифікація білків, молекули середньої маси.

ВСТУП

Останнім часом все більший інтерес викликають дослідження, які спрямовані на виявлення ланок метаболічних процесів, що набувають найбільш суттєвих змін при патології [1–4]. У зв'язку з цим вельми актуальним представляється розгляд питань стану окислювальної модифікації білків і утворення молекул середньої маси в сироватці крові, оскільки вони є відображенням розвитку біохімічних змін на молекулярному рівні та можуть бути використаними як індикатори розвитку захворювань [5–14].

Процес окислювальної модифікації білків в організмі може бути спричинений генерацією активних форм кисню, вміст яких збільшується при патологічних і стресових ситуаціях. З літературних даних відомо, що на їх продукцію впливають ті ж чинники, які регулюють і фізіологічну активність кліток, зокрема гормони. Обумовлений введенням надмірної дози інсуліну гіперінсулінемічний стан є стресовим для організму і також може супроводжуватись підвищенням рівня активних форм кисню, що викликає особливий інтерес для вивчення. Гіперінсулінемія відмічена окрім інсуліннезалежного цукрового діабету при цілому ряду захворювань серцево-судинної системи [15–32], крім того штучно викликана гіперінсулінемія застосовується в лікуванні психічних розладів [33].

У зв'язку з цим, метою роботи з'явилося вивчення вмісту продуктів окислювальної модифікації білків і рівня молекул середньої маси в сироватці крові лабораторних щурів, які зазнали дії експериментальної гіперінсулінемії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальна частина роботи виконана на дорослих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 грам ($n=90$), отриманих з розплідника науково-дослідного інституту біології Харківського національного університету ім. Ст. Н. Каразіна. Матеріалом для досліджень служила сироватка крові лабораторних щурів. Всі тварини були розділені на наступні групи: інтактна група; група у якої була виражена гіперінсулінемія; група, у якої стан гіперінсулінемії купірувався глюкозою. Дослідним щурам натще підшкірно вводили по 3,5 Ед інсуліну. Після появи судом, розвитку гіпоглікемічної коми, частину тварин декапітували. Решті щурів для купірування коми вводили по 3,5 мл 20% розчину глюкози. Після зникнення ознак гіперінсулінемії тварин через годину декапітували.

Для визначення окислювальної модифікації білків сироватки крові використовували метод О.Є. Дубініної [2]. Оптичну щільність дінитрофенілгідрозонів, які утворилися, реєстрували при довжинах хвиль: 346 і 370 нм (альдегідні і кетонні продукти окислювальної модифікації нейтрального характеру), а також при 430 нм і 530 нм (альдегідні і кетонні продукти окислювальної модифікації основного характеру). Вміст молекул середньої маси в сироватці крові визначали за методом Габріелян Н.І. і ін. [3, 4].

Оцінка достовірності відмінностей між даними, отриманими в результаті дослідження, проводилася з використанням t -критерія Ст'юдента. Розрахунки і графічне оформлення отриманих в роботі даних проводилися з використанням програми Microsoft Excel і програмного пакету «STATISTICA – 6.0» [34, 35].

Експеримент проводився з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і Ухвали першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Оскільки інсуліновий шок є станом, який активізує процеси утворення активних форм кисню [7–10], представляло інтерес оцінити рівень окислювальної модифікації білків в сироватці крові лабораторних щурів, які знаходилися в стані гіперінсулінемії, а також виведених з нього за допомогою купірування глюкозою (рис. 1).

У літературі накопичена достатня кількість матеріалу про збільшення кількості активних форм кисню (АФК), які виконують роль вторинних посередників, при дії різних чинників, у тому числі і інсуліну [6–8]. Ймовірно, отримані результати пов'язані з тим, що при дії надмірних доз інсуліну, стимулюючих утворення АФК, відбувається посилення модифікації білків.

При купіруванні гіперінсулінемії глюкозою в сироватці крові експериментальної групи щурів рівень продуктів окислювальної модифікації білків достовірно знижується до значень показника інтактної групи. Проте слід зазначити, що введення глюкози при купіруванні гіперінсулінемії є ефективним відносно зниження даного показника тільки в сироватці крові, тоді як в різних органах і тканинах змін або не виявлено, або зниження спостерігається на рівні тенденції [36].

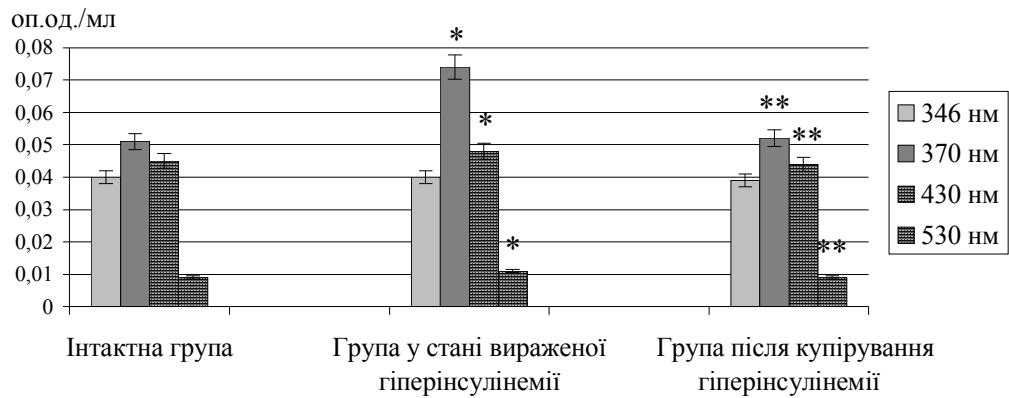


Рис. 1. Вміст продуктів окислювальної модифікації білків сироватки крові лабораторних щурів інтактної і експериментальних груп, ($\bar{x} \pm S \bar{x}$).

Примітка: * – вірогідність різниці показників порівняно з інтактною групою ($p < 0,05$);

** – вірогідність різниці показників двох експериментальних груп ($p < 0,05$).

Окислювальна модифікація білків пов'язана зі зміною в їх структурній організації, фрагментацією, що супроводжується утворенням низькомолекулярних компонентів. Ступінь фрагментації окислених білків в сироватці крові визначається по зміні вмісту молекул середньої маси, які є біохімічним маркером, що відображає рівень патологічного білкового метаболізму (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст молекул середньої маси в сироватці крові лабораторних щурів інтактної та експериментальних груп, оп. од./мл ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Досліджуваний матеріал	n	Довжина хвилі, нм		
		254	272	280
Сироватка крові щурів інтактної групи	30	0,53±0,03	0,92±0,02	1,00±0,04
Сироватка крові щурів в стані вираженої гіперінсулінемії	30	0,74±0,03*	1,23±0,02*	1,30±0,01*
Сироватка крові щурів після купірування гіперінсулінемії	30	0,56±0,05**	1,00±0,02*,**	1,09±0,01**

Примітка: позначення такі самі, що й на Рис. 1.

Аналіз отриманих даних указує на те, що в стані гіперінсулінемії в сироватці крові лабораторних щурів спостерігається вірогідне підвищення на 25–30 % рівня молекул середньої маси в порівнянні з показником інтактної групи. Після купірування гіперінсулінемії в сироватці крові групи щурів вміст молекул середньої маси достовірно знижується щодо показника експериментальної групи в стані вираженої гіперінсулінемії, а для значень, що реєструються при довжинах хвиль $\lambda=254$ і 280 нм, практично досягає рівня інтактної групи.

Можна припустити, що зниження молекул середньої маси має певне значення в регуляції процесів метаболізму, оскільки в літературі є дані, що свідчать про широкий спектр біологічної активності фракцій даного пулу з'єднань, зокрема антиоксидантної [5, 6].

Отримані результати дослідження дозволяють судити про те, що купірування гіперінсулінемії глюкозою призводить до зниження вивчених показників в сироватці крові лабораторних щурів практично до рівня інтактної групи. Використовуючи отримані в роботі дані, можна створити основу для розробки нових підходів контролю усунення гіперінсулінемічного стану, а також діагностики перебігу інсулінотерапії.

ВИСНОВКИ

1. Експериментальна гіперінсулінемія підвищує вміст продуктів окислювальної модифікації білків в сироватці крові лабораторних щурів в 1,5 рази в порівнянні з інтактною групою. Після купірування інсулінового шоку спостерігається зниження даного показника у лабораторних тварин в порівнянні з групою в стані вираженої гіперінсулінемії.
2. В стані експериментальної гіперінсулінемії в сироватці крові лабораторних тварин спостерігається підвищення рівня молекул середньої маси на 25–30 % в порівнянні з інтактною групою. Купірування інсулінового шоку призводить до зниження даного показника в сироватці крові лабораторних щурів в порівнянні з групою в стані вираженої гіперінсулінемії

Список літератури

1. Хаггинс Ч. Расшифровка клинических лабораторных анализов / Чарльз Б. Хаггинс, пер. с англ. В.Л. Эмануэля. – Москва: Бином, 2004. – С. 41–87.
2. Дубинина Е. Окислительная модификация белков / Е. Дубинина, В. Шугалей // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, Вып. 1. – С. 71–81.
3. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях. Метод. рекоменд / Н.И. Габриэлян, Э.Р. Левицкий, А.А. Дмитриев [и др.] – М.: Медицина, 1985. – 18 с.
4. Гаврилов В.Б. Определение тирозин- и триптофансодержащих пептидов в плазме крови по поглощению в УФ-области спектра / В.Б. Гаврилов, Н.Ф. Лобко, С.В. Конев // Клин. лаб. диагн. – 2004. – Вып.3. – С. 12–16.
5. Абакумова Ю.В. Свободнорадикальное окисление при атеросклерозе как патогенный фактор / Ю.В. Абакумова, Н.А. Ардаматский // Медико-биологический вестник им. Я.Д. Витебского. – 1996. – Т. 21. – Вып. 2. – С. 15–21.
6. Калуев А.В. Выполняют ли регуляторную роль в клетке взаимодействия АФК с ДНК? / А.В. Калуев // Український біохімічний журнал. – 1999. – Т. 71. – Вып. 2. – С. 104–108.

7. Зенков Н.К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. – М.: МАИК, 2001. – 343 с.
8. Зайцев В.Г. Активные формы кислорода (синопсис) / В.Г. Зайцев // Успехи современной биологии. – 2004. – Вып. 2. – С. 69–75.
9. Кутлубаев М.А. Свободнорадикальное окисление и его регуляция психотропными препаратами в условиях хронического стресса (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание учен. степени канд. медицинских наук: спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / М.А. Кутлубаев. – Омск, 2007. – 22 с.
10. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / Valko Marian, Dieter Leibfritz, Jan Moncol [et al.] // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. – 2007. – 39. – P. 44–84.
11. Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В.И. Кулинский // Соросовский Образовательный Журнал. – 1999. – № 1. – С. 2–7.
12. Скулачев В.П. Кислород в живой клетке: Добро и зло / В.П. Скулачев // Соросовский Образовательный Журнал. – 1996. № 3. – С. 4–10.
13. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие / В.В. Соколовский // Вопр. мед. химии. – 1988. – № 34 (6). – С. 2–11.
14. Свободные радикалы в живых системах / Ю.А. Владимиров, О.А. Азизова, А.И. Деев [и др.] // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. – 1991. – Т. 29. – С. 3–15.
15. Ogilvy-Suart A. Hypoglycemia, management of hyperinsulinism / A. Ogilvy-Suart, P. Midgley // Practical Neonatal Endocrinology. – 2006. – P. 7–27.
16. Архипов В.Ф. Особенности раннего послеоперационного периода у больных органическим гиперинсулинизмом / В.Ф. Архипов // Вестник хирургии. – 1996. – Том 155, №2. – С. 29–32.
17. Асмоловская М.Б. Пато- и морфогенетические особенности диабетических ангиопатий / М.Б. Асмоловская, А.Е. Доросевич // Здравоохранение Белоруссии. – 1992. – №7. – С. 53–59.
18. Диагностика и лечение органического гиперинсулинизма / А.В. Егоров, Н.М. Кузин, С.А. Кондрашин [и др.] // Хирургия. – 1999. – №12. – С. 21–26.
19. Инсулинотерапия больных сахарным диабетом / [Ефимов А.С., Скробонская Н.А, Ткач С.Н., Сакало Е.А]. – К.: Здоровье, 2000. – 248 с.
20. Гиперинсулинемия и инсулинрезистентность у женщин с метаболическим синдромом в климактерическом периоде / Н.В. Изможерова, А.А. Попов, Н.В. Тагильцева [и др.] // Клиническая медицина. – 2006. – №5. – С. 65–68.
21. Органический гиперинсулинизм / Н.М. Кузин, А.В. Егоров, М.Г. Лакреева [и др.] // Клиническая медицина. – 1998. – №4. – С. 7–11.
22. High blood glucose concentration is a risk factor for mortality in middle-aged nondiabetic me/ B. Balkou, M. Shipley, Jarrett R.J. [et al.] // Diabetes Care. – 1998. – V. 21. – P. 360–367.
23. Barrett Connor E.M. Does hyperglycemia really cause coronary heart disease? / E.M. Barrett Connor // Diabetes Care. – 1997. – V. 20. – P. 1620–1623.
24. Mortality from coronary heart disease in the Tecumseh Study. Long-term effect of diabetes mellitus, glucose tolerance and other risk factors / W.J. Butler, L.D. Ostrander, W.J. Carman [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 1985. – V. 121. – P. 541–547.
25. Diabetes and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association / S.M. Grundy, I.J. Benjamin, G.L. Burke [et al.] // Circulation. – 1999. – V. 100. – P. 1134–1146.
26. Loren Cordain. Hyperinsulinemic diseases of civilization: more than just syndrome X / Cordain Loren, R. Michael Eades, D. Mary Eades // Comparative biochemistry and physiology part. – USA. – 2003. – P. 95–112.
27. Ginsberg Henry N. Insulin resistance and cardiovascular disease / N. Henry Ginsberg // Journal of clinical investigation. New York. – 2000. – Vol. 106, № 4. – P. 453–457.
28. Hyperinsulinemia, insulin resistance and hyperglycemia: contributing factors in pathogenesis of hypertension and atherosclerosis / J.R. Sowers, P.R. Standley, J.L. Ram [et al.] // Am. J. Hypertens. – 1993. – V. 6. – P. 260–270.
29. Компоненты метаболического синдрома у больных с артериальной гипертензией / М.Н. Мамедов, Н.В. Перова, В.А. Метельская [и др.] // Кардиология. – 1997. – № 12. – С. 37–41.

30. Diabetes, other risk factors and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial / J. Stamler, O. Vaccaro, J.D. Neaton [et al.] // *Diabetes Care*. – 1993. – V. 16. – P. 434–444.
31. Kaplan N.M. The deadly quartet: upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia and hypertension / N.M. Kaplan // *Arch. Intern. Med.* – 2009. – V. 149. – P. 1514–1520.
32. Бригов А.Н. Профилактика артериальной гипертензии на популяционном уровне: возможности и актуальные задачи / А.Н. Бригов // *Русский медицинский журнал*. – 1997. – № 5. – С. 571–576.
33. Берн Э. Введение в психиатрию и психоанализ для непосвященных / Э. Берн; [пер. с англ. А.И. Федорова]. – Минск: Попурри, 1998. – С. 124–126.
34. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере для профессионалов / Боровиков В. – 2-е изд. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
35. Новиков Д.А. Статистические методы в медико-биологическом эксперименте (типовые случаи) / Д.А. Новиков, В.В. Новачадов – Волгоград: Изд-во Волга, 2005. – 84 с.
36. Никольская В.А. Влияние экспериментальной гиперинсулинемии на процессы окислительной модификации белков в тканях лабораторных крыс / В.А. Никольская, Т.В. Рубановская // *Ученые записки ТНУ, серия «Биология. Химия»*. – 2009. – Т.22 (61), №2. – С.103–109.

Никольская В.А. Изменения биохимических показателей сыворотки крови лабораторных крыс при воздействии экспериментальной гиперинсулинемии / В.А. Никольская // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 1. – С.130-135

При экспериментальной гиперинсулинемии наблюдается повышение содержания молекул средней массы в сыворотке крови лабораторных крыс. Методом определения окислительной модификации белков установлена активация перекисных процессов в сыворотке крови с образованием альдегидных и кетонных продуктов нейтрального и основного характера. Купирование гиперинсулинемии глюкозой позволяет снизить показатели окисленных продуктов.

Ключевые слова: гиперинсулинемия, сыворотка крови, окислительная модификация белков, молекулы средней массы.

Nikolskaya V.A. Changes of biochemical indexes of serum blood of laboratory rats at influence of experimental hyperinsulinemia / V.A. Nikolskaya // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 1. – P. 130-135.

In experimental hyperinsulinemia observed elevated levels of molecules of average weight in the serum of laboratory rats. By the methods for determining the oxidative modification of proteins, peroxide activation processes in blood serum with the formation of aldehydic and ketonic product of neutral and basic character are installed. Relief of hyperinsulinemia by glucose can reduce rates of oxidized products.

Keywords: hyperinsulinemia, serum, oxidative modification of proteins, the molecules of average weight.

Поступила в редакцию 17.02.2011 г.