

АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ХРОМ ЦИТРАТУ

Р. Іскра

*Інститут біології тварин НААН
вул. В.Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: iskra_r@ukr.net*

Досліджували активність дегідрогеназ вуглеводного обміну в крові і тканинах щурів за умови додавання до їх раціону хром цитрату (10 мкг Cr/кг маси тіла). Встановлено зниження вмісту глюкози у крові щурів, підвищення вмісту глікогену в печінці та зростання активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і лактатдегідрогенази у крові й тканинах щурів дослідної групи, порівняно з тваринами контрольної групи.

Ключові слова: щур, хром цитрат, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, лактатдегідрогеназа.

Тривалентний хром (Cr^{3+}) – есенціальний елемент, який має важливе значення для життєдіяльності організму людини і тварин, бере участь у регуляції вуглеводного, білкового та ліпідного обміну. Встановлено, що хром підсилює дію інсуліну в складі хромодуліну – специфічного білка, який використовується в активації рецепторів цього гормону [13]. За недостатнього надходження хрому в організмі виникають метаболічні порушення, симптоми яких подібні до таких, що спостерігаються при діабеті та серцево-судинних хворобах [15]. Додаткове введення в дієту хворим пацієнтам Cr приводить до нормалізації рівня глюкози й інсуліну в крові [10].

На сьогодні встановлені чіткі переваги застосування мікроелементів, у т.ч. хрому, у вигляді органічних сполук, порівняно з їхніми мінеральними солями. Перспективним напрямом у вирішенні проблеми ліквідації дефіциту хрому є збагачення продуктів харчування мікроелементом у вигляді цитратів – солей лимонної кислоти, які синтезуються в організмі людини й тварин, і беруть участь в циклі Кребса. Обґрунтовані механізми значного посилення метаболічної активності й корисності хром цитратів, отриманих за аквананотехнологією [1].

Метою досліджень було встановити вплив хром цитрату в дозі 10 мкг Cr/кг маси тіла на активність дегідрогеназ гліколітичного та пентозофосфатного шляхів метаболізму глюкози в організмі самців щурів.

Матеріали та методи

Дослід проведений на самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар, масою тіла 180–200 г, яких було поділено на дві групи – контрольна і дослідна, по 4 тварини у кожній. Годівлю проводили стандартним комбікормом для щурів, з вільним доступом до кормів і води. Самцям щурів дослідної групи, на відміну від контрольної, до дистильованої води додавали розчин хром цитрату ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CrO}_7$), в дозі 10 мкг Cr/кг маси тіла. Розчин хром цитрату був одержаний методом ерозійно вибухової нанотехнології [6]. Суть цього методу полягає в отриманні водного колоїдного розчину наночастинок хрому за допомогою електроімпульсної аквананотехнології, які після безпосередньої взаємодії з лимонною кислотою утворюють розчин хром цитрату високої чистоти.

На 30-ту добу експерименту здійснювали забій самців під ефірним наркозом із дотриманням біоетичних принципів експериментів на тваринах. Матеріалом для досліджень слугували кров і тканини щурів: печінка, нирки, мозок, прямий м'яз стегна, легені, серце, селезінка. У крові та тканинах щурів визначали вміст глюкози, глікогену, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та лактатдегідрогенази [3]. Одержані експериментальні дані опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

Результати і їхнє обговорення

У результаті проведених досліджень на щурах-самцях, яким вполювали хром цитрат у концентрації 10 мкг Сг/кг маси тіла, встановлені зміни показників вуглеводного обміну в крові та тканинах внутрішніх органів. Так, у плазмі крові самців дослідної групи встановлено зниження вмісту глюкози в 1,2 разу, порівняно з показниками тварин контрольної групи, що, очевидно, зумовлене кращим надходженням глюкози до клітин різних тканин (табл. 1).

Відомо, що фізіологічну концентрацію глюкози у крові підтримує глікоген печінки. За дії хром цитрату його вміст підвищується в 1,1 разу (табл. 1), що свідчить про стимуляцію глікогенезу. У той же час вміст глікогену в м'язах стегна за дії хром цитрату знижується в 1,1 разу ($P < 0,01$). Слід наголосити, що м'язовий глікоген є джерелом глюкози для самих м'язів і не регулює вміст глюкози у крові.

Таблиця 1

Вміст глюкози у крові та глікогену в тканинах щурів самців
за дії хром цитрату в концентрації 10 мкг Сг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n=4$)

Група	Глікоген, г/кг		Глюкоза, ммоль/л
	Печінка	М'яз стегна	Кров
К	2,20±0,35	1,10±0,02	8,96±1,19
Д	2,48±0,13	0,99±0,01**	7,48±0,73

Примітка. У табл. 1 і 2 вірогідні різниці показників дослідної групи щодо контрольної: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01-0,025$, *** – $P < 0,001-0,002$.

Слід відзначити, що транспортування глюкози з крові у клітини відбувається за механізмом полегшеної дифузії, тобто за градієнтом концентрації за участі білка-переносника [5]. Ефективність роботи цієї транспортної системи в клітинах більшості органів і тканин (жирова тканина, скелетні м'язи) залежить від інсуліну, який збільшує проникність зовнішньоклітинної мембрани для глюкози, збільшуючи тим самим кількість білка-переносника за рахунок додаткового його надходження з цитозолу у плазмалему [12]. Однак у клітинах інсулінонезалежних тканин (печінки, мозку, клітин крові, мозкового шару нирок) ефективність переносу глюкози через їхні зовнішні мембрани не залежить від інсуліну. Тому за певних умов глюкоза незалежно від інсуліну може частково надходити у клітини цих тканин і там метаболізуватись як по шляху гліколізу, так і по пентозофосфатному шляху.

Встановлено, що за дії хром цитрату у крові і тканинах самців щурів зростає активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) – ензиму пентозофосфатного шунту. В еритроцитах самців щурів дослідної групи активність ензиму зростає в 2,0 рази ($P < 0,01$), порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 2). Основна роль пентозофосфатного шунту гліколізу в еритроцитах полягає в утворенні НАДФН, необхідного для підтримання активності глутатіонредуктази. Таким чином реалізується зв'язок між метаболізмом моносахаридів і функціонуванням антиоксидантної системи клітин [14].

У тканинах тварин за дії хром цитрату активність Г-6-ФДГ зростає в печінці (у 2,6 рази, $P < 0,01$), нирках (у 3,8 рази, $P < 0,01$), мозку (в 1,2 рази), м'язі (у 2,9 рази, $P < 0,01$), легенях (у 2,3 рази, $P < 0,01$), серці (у 2,4 рази, $P < 0,05$), селезінці (в 3,9 рази, $P < 0,05$) (табл. 2).

У клітинах цих тканин організму продукт пентозофосфатного шунту – рибозо-5-фосфат є необхідний для синтезу пуринових нуклеотидів і, відповідно, нуклеїнових кислот. Отже, підтримання активності реакцій шунту на відповідному рівні має істотне значення для забезпечення пластичним матеріалом проліфераційних процесів у клітинах. Крім того, за участю Г-6-ФДГ відновлюються молекули НАДФ, які можуть використовуватися під час синтезу жирних кислот або окиснюватись ензимами дихального ланцюга [4].

Таблиця 2

Активність ензимів вуглеводного обміну в тканинах щурів-самців
за дії хрому цитрату в концентрації 10 мкг Ст/кг маси тіла ($M \pm m$, $n=4$)

Тканина	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, мкмоль НАДФ ⁺ /хв x мг протеїну		Лактатдегідрогеназа, мкмоль НАДН /хв x мг протеїну	
	К	Д	К	Д
Кров	3,64±0,56	7,37±0,55**	38,92±1,99	48,43±2,77*
Печінка	0,35±0,08	0,90±0,04**	0,37±0,01	0,68±0,06**
Нирка	0,32±0,01	1,21±0,21**	0,33±0,05	1,24±0,05***
Мозок	0,47±0,19	0,58±0,06	2,24±0,09	0,75±0,04***
М'яз стегна	0,24±0,04	0,71±0,08**	0,31±0,05	0,42±0,08
Легеня	0,56±0,01	1,30±0,15**	0,32±0,03	0,93±0,06***
Серце	0,17±0,03	0,42±0,11*	0,44±0,04	1,44±0,21**
Селезінка	0,87±0,09	3,43±0,92*	0,25±0,02	0,67±0,07**

Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) – ензиму кінцевої ланки гліколізу, за дії хрому цитрату в крові зростає в 1,2 разу ($P < 0,05$, табл. 2). Можна припустити, що активація ензиму в еритроцитах (яким властивий анаеробний тип метаболізму) зумовлена перерозподілом в ізоензимному складі ЛДГ у напрямі збільшення частки мономерів М-типу, що забезпечує зростання співвідношення лактат/піруват [2]. Активація ЛДГ в еритроцитах свідчить про мобілізацію енергетичних ресурсів для максимального утворення молекул АТФ, необхідних для внутрішньоклітинних процесів [9].

Активність ЛДГ у тканинах щурів дослідної групи зростає в печінці (в 1,8 разу, $P < 0,01$), нирках (у 3,8 разу, $P < 0,001$), м'язі стегна (в 1,3 разу), легенях (у 2,9 разу, $P < 0,001$), серці (у 3,3 разу, $P < 0,01$) та селезінці (у 2,7 разу, $P < 0,01$), за винятком мозку, де активність її знижується у 3,0 рази ($P < 0,001$), порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 2). Оскільки відомо, що у клітинах тканин з аеробним типом метаболізму (серце, нирка, печінка) переважають Н-субодиниці ЛДГ, то збільшення її ензиматичної активності в цих тканинах може вказувати на зміщення рівноваги реакції в бік утворення пірувату. Це сприяє перетворенню останнього в циклі трикарбонних кислот [11].

Тканини скелетних м'язів прийнято відносити до анаеробних тканин, хоча відомо, що вони містять два типи волокон, яким властивий гліколітичний і окисний обмін [8]. У скелетних м'язах в анаеробних умовах швидкість утворення пірувату на шляху гліколізу перевищує швидкість його окиснення в циклі трикарбонних кислот. А швидкість утворення НАДН при гліколізі вища, ніж швидкість його окиснення в дихальному ланцюгу. Тому зростання активності ЛДГ у м'язах свідчить про стимуляцію утворення лактату і НАД⁺, який у подальшому бере участь в окисненні гліцераальдегід-3-фосфату.

Зростання активності ЛДГ у тканинах легень і селезінки свідчить про активацію як аеробних, так і анаеробних шляхів гліколізу в цих тканинах, оскільки є дані, що в них переважають гібридні фракції ізоензимів [8].

У мозку, де глюкоза є єдиним джерелом енергії, активність ЛДГ за дії хрому цитрату знижується, що свідчить про активний перебіг окисних процесів у цій тканині, а саме – активації окисного декарбоксілювання пірувату.

Таким чином, зростання активності ензимів гліколізу (ЛДГ) та пентозофосфатного шляху (Г-6-ФДГ) у крові і тканинах щурів дослідної групи свідчить про активацію цих ланок метаболізму за дії хром цитрату. Вплив хрому може бути пов'язаний зі стимулюючою дією мікроелементу на інсулін у клітинах інсулінозалежних тканин. Однак відомо, що лише 15% глюкози поглинається інсулінозалежними тканинами, а 25% її надходить в інсулінонезалежні тканини [7], що, очевидно, відбувається за рахунок збільшення експресії генів, які визначають синтез специфічних транспортних білків за дії хрому. Зростання активності дегідрогеназ вуглеводного обміну, очевидно, відбувається за рахунок наявності достатньої кількості глюкози всередині клітини та стимуляції синтезу молекул ензимів за дії хром цитрату.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Борисевич В. Б., Борисевич Б. В., Хомин Н. М.* та ін. Здобутки нанотехнології в лікуванні та профілактиці хвороб тварин. Нановетеринарія (впровадження інноваційних технологій). К.: ДІА, 2009. 184 с.
2. *Великий М. М., Верніковська Я. І., Старикович Л. С.* Дослідження впливу вітаміну Д₃ на метаболічні процеси в еритроцитах щурів за умов дії екстремальних факторів // Укр. біохім. журн. 1999. Т. 71. № 6. С. 17–22.
3. *Влізло В. В., Федорук Р. С., Макара І. А.* та ін. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: ВМС, 2004. 399 с.
4. *Гаврилов О. К., Козинец Г. И., Черняк Н. В.* Клетки костного мозга и периферической крови. М.: Медицина, 1985. 286 с.
5. *Галенова Т. І., Ракиша Н. Г., Савчук О. М., Остапенко Л. І.* Функціонування деяких ключових ферментів вуглеводного обміну у щурів за умов експериментального цукрового діабету 2-го типу // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2011. №2. С. 13–21.
6. Патент України на корисну модель № 29856. Спосіб отримання аквахелатів нанометалів «Ерозійно-вибухова нанотехнологія отримання аквахелатів нанометалів» / Косінов М. В., Каплуненко В. Г.; МПК (2006): B01J 13/00, B82B 3/00; Опубл. 25.01.2008; Бюл. № 2/2008.
7. *Теппермен Дж., Теппермен Х.* Физиология обмена веществ и эндокринной системы / пер. с англ. М.: Мир, 1989. 656 с.
8. *Унжаков А. Р., Илюха В. А., Мацук Н. В., Белкин В. В.* Роль изоферментов лактатдегидрогеназы в адаптациях млекопитающих Карелии // Экология. Экспериментальная генетика и физиология. Труды Карельск. науч. центра РАН. 2007. Вып. 11. С. 118–126.
9. *Agre P., Parker J. C.* Red blood cell membranes: structure, function, clinical implications // Hematology. New York: CRC Press. 1989. Vol. 11. P. 733.
10. *Cefalu W. T., Hu F. B.* Role of Chromium in Human Health and in Diabetes // Diabetes Care. 2004. Vol. 27. N 11. P. 2741–2751
11. *Quistorff B., Grunnet N.* The isoenzyme pattern of LDH does not play a physiological role; except perhaps during fast transitions in energy metabolism // Aging. 2011. Vol. 3. N 5. P. 457–460.
12. *Shigematsu S., Khan Ahmir H., Kanzaki M., Pessin J.* Intracellular insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) distribution but not insulin-stimulated GLUT4 exocytosis and recycling are microtubule dependent // Molecular endocrinology. 2002. Vol. 16. N 5. P. 1060–1068.

13. *Vincent J. B.* The Nutritional Biochemistry of Chromium (III) / Department of Chemistry, The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. 277 p.
14. *Wiback S. J., Palsson B. O.* Extreme pathway analysis of human red blood cell metabolism // *Biophys. J.* 2002. Vol. 83. N 2. P. 808–818.
15. *Wiernsperger N. F.* Membrane physiology as a basis for the cellular effects of metformin in insulin resistance and diabetes // *Diabetes Metab.* 1999. Vol. 25. P. 110–127.

Стаття: надійшла до редакції 27.12.11

доопрацьована 21.08.12

прийнята до друку 04.09.12

THE ACTIVITY OF DEHYDROGENASES OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN RATS UNDER THE ACTION OF CHROMIUM CITRATE

R. Iskra

*Institute of Animal Biology UAAS
38, Stus St., Lviv 79034, Ukraine
e-mail: iskra_r@ukr.net*

The activity of dehydrogenases of carbohydrate metabolism in blood and tissues of rats after addition to their diet of chromium citrate (10 µg Cr/kg of body weight) was investigated. It was established a reduction of glucose level in the blood of rats, increasing concentrations of glycogen in the liver and the growth of activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and lactate dehydrogenase in the blood and tissues of rats of experimental group, compared with animals of the control group.

Keywords: rat, chromium citrate, glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase.

АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ХРОМ ЦИТРАТА

Р. Іскра

*Институт биологии животных НААН
ул. В.Стуса, 38, Львов 79034, Украина
e-mail: iskra_r@ukr.net*

Исследовали активность дегидрогеназ углеводного обмена в крови и тканях крыс при условии добавления к их рациону хром цитрата (10 мкг Cr/кг веса тела). Установлено снижение содержания глюкозы в крови крыс, повышение содержания гликогена в печени и повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы в крови и тканях крыс опытной группы в сравнении с животными контрольной группы.

Ключевые слова: крыса, хром цитрат, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа.