

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ У М'ЯЗОВІЙ ТКАНИНІ ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ЗА КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ ЦИТРАТІВ МАГНІЮ І ХРОМУ

О. А. ШАТИНСЬКА, Р. Я. ІСКРА, О. З. СВАРЧЕВСЬКА

*Інститут біології тварин НААН
вул. В. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна
e-mail: sh_poshta@meta.ua*

Метою роботи було дослідження комплексного впливу цитратів магнію (у дозі 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла) і хрому (у дозах 10 мкг Cr^{3+} /кг та 25 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла) на функціональний стан ключових ензимів вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів із експериментальним цукровим діабетом. Показано, що за умов розвитку експериментального цукрового діабету, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази знижувалася, натомість активність лактатдегідрогенази підвищувалась. Водночас, встановлено зростання вмісту L-лактату і зниження вмісту пірувату у м'язовій тканині тварин з експериментальним цукровим діабетом. Виявлено, що профілактичне введення до раціону щурів комплексу цитратів магнію і хрому сприяло підвищенню активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і вмісту пірувату, а також зниженню активності лактатдегідрогенази та вмісту L-лактату у м'язовій тканині тварин.

Ключові слова: цитрат магнію, цитрат хрому, цукровий діабет, вуглеводний обмін.

Вступ. Взаємозв'язок між цукровим діабетом (ЦД) і різними вітамінами та мінеральними сполуками, має високий ступінь залежності. Хоча цукровий діабет характеризуються порушенням усіх видів обміну речовин, і насамперед, вуглеводного, саме хронічний гіперглікемії належить провідна роль у механізмах розвитку ускладнень цього захворювання (Федів О. І. та ін., 2008; Галенова Т. І. та ін., 2011; Та S., 2014). Неконтрольована гіперглікемія може викликати значні зміни в статусі поживних речовин, і, навпаки, деякі з цих речовин, особливо ті, які визначені як мікро- і макроелементи, можуть бути безпосередньо залучені до модуляції глюкозного гомеостазу (Mooradian A. D. et al., 1994).

Хром і магній - важливі елементи, які беруть участь у дії інсуліну та енергетичного метаболізму без значних побічних ефектів. Втім на сьогодні, немає достатньо клінічно обґрунтованих доказів у їх регулярному використанні для лікування та профілактики цукрового діабету (Guerrero-Romero F., Rodríguez-Morán M., 2005).

Тому метою нашої роботи було дослідження комплексного впливу різних доз цитратів магнію (Mg^{2+}) і хрому (Cr^{3+}) на стан вуглеводного обміну м'язової тканини щурів як засобу для запобігання виникненню цукрового діабету та його ускладненням.

Матеріали та методи дослідження.

Експериментальні дослідження проводилися на 25 білих лабораторних щурах лінії Вістар,

масою тіла від 130 до 150 г. Тварини перебували у віварії Інституту біології тварин НААН за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Було сформовано чотири групи тварин: контрольна група (КГ) – тварини без цукрового діабету; перша дослідна група (ДГ1) – тварини з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД), які споживали питну воду без цитратів; друга (ДГ2) і третя (ДГ3) дослідні групи – тварини з ЕЦД, яким протягом 30 днів експерименту, з метою профілактики, до питної води комплексно додавали цитрат магнію ($C_6H_6O_7Mg$) і цитрат хрому ($C_6H_5CrO_7$) у дозах, відповідно, ДГ2 – 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла і 25 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла; ДГ3 – 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла і 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла. Експериментальний цукровий діабет у тварин дослідних груп індукували на 20-ту добу експерименту одноразовим внутрішньочеревинним введенням алоксан моногідрату (Синбіас) з розрахунку 150 мг/кг маси тіла. Гіперглікемію виявляли вимірюванням глюкози крові, зібраної з хвостової вени, за допомогою портативного глюкометра (Gamma-M). На 30-ту добу тварин виводили з експерименту за легкого ефірного наркозу способом декапітації. Матеріалом для досліджень слугувала м'язова тканина щурів, у гомогенатах якої визначали активність ключових ензимів вуглеводного обміну: глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) (Влізло В. В., та ін.,

2012), а також вміст лактату і пірувату (Гончар М.В. та ін., 2009).

Експериментальні дані обробляли за допомогою пакета програм Excel. Для визначення відмінностей між середніми величинами використовували t-критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення.

Під час наших досліджень ми спостерігали достовірне зниження активності Г-6-ФДГ на 53,3

% (рис. 1) і достовірне підвищення активності ЛДГ у м'язовій тканині (рис. 2) щурів ДГ1 з ЕЦД порівняно із тваринами контрольної групи. На фоні зміни активності ензимів у тварин ДГ1 змінюється вміст метаболітів вуглеводного обміну: незначчне підвищення вмісту L-лактату на 13,2 % (рис. 3) та достовірне зниження вмісту пірувату на 70,5 % (рис. 4), порівняно із контрольною групою тварин.

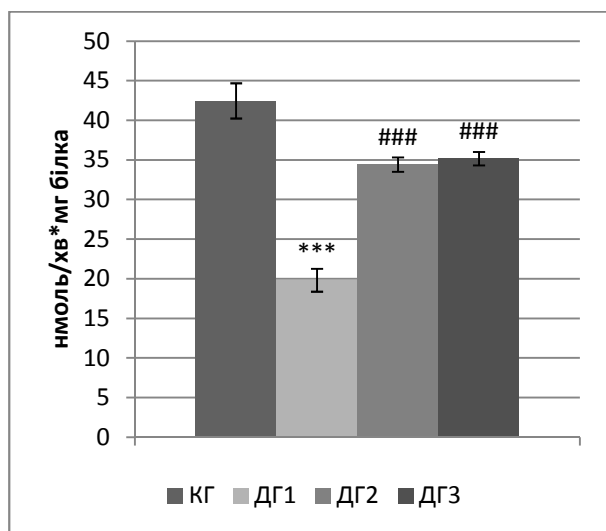


Рис. 1. Активність Г-6-ФДГ у м'язовій тканині

Fig. 1. The activity of the G-6-PDG in muscle tissue

Вірогідна різниця із контрольною групою: *** – $p < 0,01$. Вірогідна різниця із ДГ1: # – $p < 0,05$; ### – $p < 0,001$.

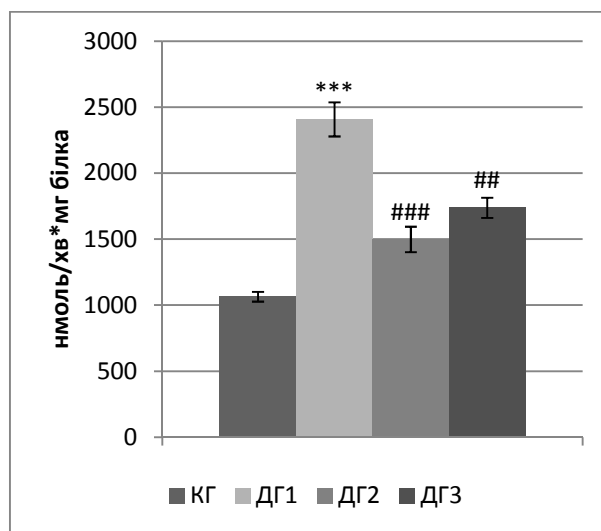


Рис. 2. Активність ЛДГ у м'язовій тканині

Fig. 2. The activity of the LDH in muscle tissue

Significant difference against to control group: *** – $p < 0,01$. Significant difference against to RG1: # – $p < 0,05$; ### – $p < 0,001$

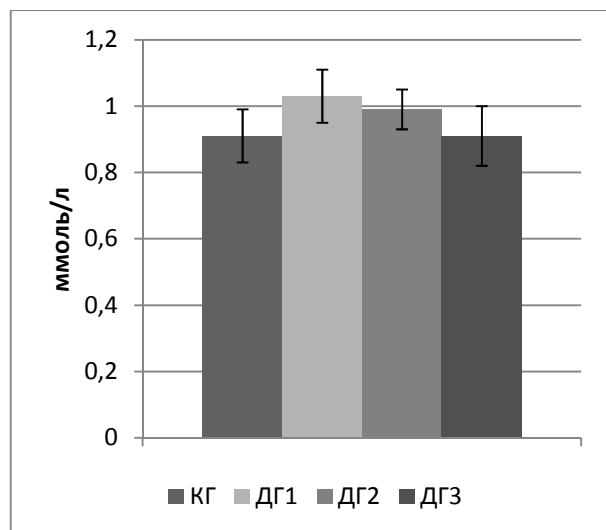


Рис. 3. Вміст L-лактату у м'язовій тканині

Fig. 3. The content of the L-lactate in muscle tissue

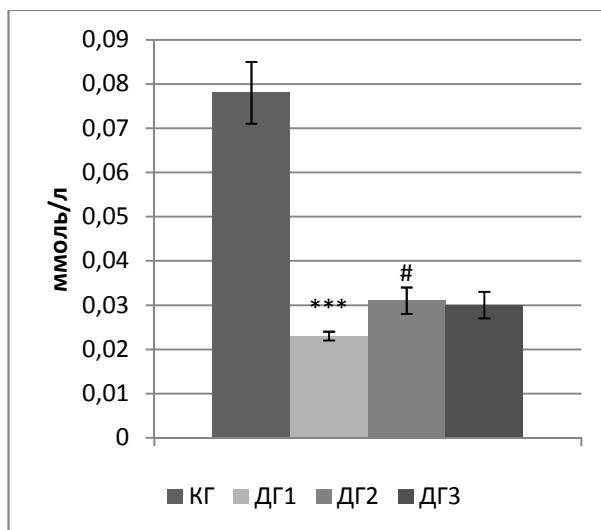


Рис. 4. Вміст пірувату у м'язовій тканині

Fig. 4. The content of the pyruvate in muscle tissue

Зниження активності Г-6-ФДГ у тварин з ЕЦД може бути зумовлено порушеннями у гормональній регуляції вуглеводного обміну, де основним гормоном який відповідає за таку регуляцію є інсулін. Додатковим фактором зниження активності може бути нестача достатньої кількості субстрату (глюкози) всередині клітини, оскільки розвиток ЦД супроводжується зниженням споживання тканинами глюкози з кровотоку (Галенова Т. І. та ін., 2011; Дрель, В. Р., 2010).

Відомо, що саме анаеробний гліколіз є основним джерелом енергії для скелетних м'язів, які є основною інсулін-чутливою тканиною, яка відповідає за утилізацію глюкози шляхом перетворення її на глікоген (DeFronzo R.A.etal., 2015; Ziel F. H.etal., 1988).

Зростання активності ЛДГ у м'язах, можливо, зумовлено недостатністю інсуліну і підвищеним утворенням NADH, який разом із надмірною продукцією ацетил-КоА може інгібувати активність піруватдегідрогеназного комплексу (GoodmanMichaelN.etal., 1974). Таким чином, у скелетних м'язах, ЛДГ здійснює окиснення NADH до NAD^+ унаслідок перетворення пірувату на лактат (Унжаков, А. Р.и др.,2007).

При додаванні комплексу цитратів магнію і хрому до питної води, спостерігалось достовірне підвищення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності м'язової тканини: у тварин ДГ2 на 73,7%, а у тварин ДГ3 на 77,5%, відносно тварин ДГ1 з ЕЦД (рис. 1).

Комплексне застосування цитратів також дозволило стабілізувати активність лактатдегідрогенази у м'язовій тканині, що супроводжувалось її достовірним зниженням на 37,8 % у ДГ2 і на 27,8 % у ДГ3, порівняно із показниками тварин ДГ1 (рис. 2). Зниження активності ЛДГ відбувалось за тенденції до зниження вмісту L-лактату на 3,9 % і 11,7 % у тварин ДГ2 і ДГ3, відповідно, порівняно із тваринами з ЕЦД (рис. 3). На тлі зниження вмісту лактату у тварин ДГ2 достовірно підвищувався вміст пірувату на 34,8 %, а у тварин ДГ3 спостерігалась тенденція до підвищення вмісту цього метаболіту на 30,4 % відносно тварин ДГ1 з ЕЦД (рис. 4).

Позитивний ефект комплексного застосування цитратів магнію і хрому на активність ферментів вуглеводного обміну може бути зумовлений впливом через гормон інсулін, а також безпосереднім залученням досліджених елементів до вуглеводного обміну. Так, відомо, що значна більшість ферментів, які являють собою ядро енергетичного метаболізму і залучені в гліколізі, дихальному ланцюзі та циклі Кребса, є Mg-залежними, оскільки магній може виступати як

алостеричний модулятор чи як кофактор у вигляді $Mg-ATP^{2-}$ (Wolf F. I., Trapani V., 2008). Перебуваючи в комплексах з АТФ, Mg забезпечує вивільнення енергії через активність Mg-залежних АТФаз (Вёрткин А. Л.и др.,2014). Крім того, магній модулює транспорт глюкози через клітинні мембрани, а також бере участь у фосфорилуванні тирозинкінази інсулінових рецепторів та, як наслідок, в інсулінопосередкованому поглинанні глюкози клітинами (Fawcett W. J.etal., 1999; Sales C. H., Pedrosa L. D. F. C., 2006; Barbagallo M. etal., 2003; MoogadianA. D. etal., 1994). Як кофактор піруватдегідрогеназного комплексу Mg^{2+} регулює надходження продуктів гліколізу в цикл Кребса і цим перешкоджає накопиченню (Вёрткин, А. Л. и др., 2014).

Основна фізіологічна роль хрому пов'язана з інсуліном, оскільки він стимулює формування дисульфідних зв'язків між дисульфідними містками інсуліну і сульфідними групами мітохондріальної мембрани, завдяки цьому інсулін збільшує потік глюкози, що проходить через мембрани (Смоляр В. І., Петрашенко Г. І., 2005). Хром бере участь у регуляції вуглеводного обміну як складова олігопептиду хроммодуліну, який активує дію інсуліну шляхом сприяння зв'язуванню гормону з рецепторами на поверхні клітини (Cefalu W. T., Hu F. B., 2004; Іскра Р. Я., Янович В. Г., 2011).

Висновки. Загалом нашими дослідженнями з'ясовано, що профілактичне комплексне застосування цитратів магнію і хрому сприяє нормалізації вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів за умов алоксан-індукованого цукрового діабету. Така нормалізація активності ферментів вуглеводного обміну за впливу цитратів магнію і хрому, очевидно, відбувається за рахунок достатнього надходження глюкози всередину клітин м'язової тканини внаслідок активації рецепторів інсуліну.

Список літератури:

1. Влізло В. В., Федорук Р. С., Ратич І. Б. та ін. за ред. Влізло В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. – Львів: СПОЛОМ, 2012. – 761с.
2. Галенова Т. І., Ракша, 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 (54). – С. 1321.
3. Гончар М. В., Смуток О. В., Осьмак Г. С. Спосіб кількісного визначення вмісту L-лактату у продуктах харчування та біологічних рідинах. Патент України 45283: 10/11/2009, Бюл. № 21.
4. Дрель В. Р. Основні механізми виникнення та розвитку діабетичних ускладнень: роль нитративного стресу // Біологічні Студії. – 2010. – Вип. 4(2). – С. 1411–58.

5. Іскра Р. Я., Янович В. Г. Інтенсивність пероксидних процесів і активність антиоксидантних ензимів у тканинах щурів за підвищеного рівня хрому в раціоні // Український біохімічний журнал. – 2011. – Т. 83, № 3. – С. 919–8.
6. Смоляр В. І., Петрашенко Г. І. Аліментарні гіпо- та гіпермікроелементози // Проблеми харчування. – 2005. – № 4. – С. 40–42.
7. Федів О. І., Марчук Ю. Ф., Вошина Л. О. Особливості ураження гепатобілярної системи у хворих на цукровий діабет II типу // Бук. мед. вісник. – 2008. – Т. 12. – № 4. – С. 1261–31.
8. Вєрткин А. Л., Талибов О. Б., Скотников А. С., Грищанчук А. М. Роль магния и калия в комплексной терапии коморбидного больного // Журнал «Лечащий Врач». – 2014. – Вып. 7. – С. 82.
9. 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.
10. Barbagallo M., Dominguez L. J., Galioto A., et. al. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X // Molecular aspects of medicine. – 2003. – Vol. 24(1). – P.39-52.
11. Cefalu W. T., Hu F. B. Role of chromium in human health and in diabetes // DiabetesCare. – 2004. – Vol. 27(11). – P. 2741-2751.
12. DeFronzo R.A., Ferrannini E., Zimmet P., Alberti, G. (Eds.). (2015). International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 VolumeSet (Vol. 1). JohnWiley&Sons;
13. Fawcett W. J., Haxby E. J., Male D. A. Magnesium: physiology and pharmacology // British journal of anaesthesia. – 1999. – Vol. 83. – № 2. – P. 302-320.
14. Guerrero-Romero F., Rodríguez-Morán M. Complementary therapies for diabetes: the case for chromium, magnesium, and antioxidants // ArchMedRes. – 2005. – 36(3): – P. 250-257.
15. Mooradian A. D., Failla M., Hoogwerf B., Maryniuk M., Wylie-Rosett J. Selected vitamins and minerals in diabetes //Diabetes care. – 1994. – Vol. 17(5).). – P. 464-479.
16. Sales C. H., Pedrosa L. D. F. C. Magnesium and diabetes mellitus: theirrelation // Clinical Nutrition. – 2006. – Vol. 25. – № 4. – P. 554-562.
17. Ta S. Diagnosis and classificationofdiabetesmellitus // Diabetescare. – 2014. – Vol. 37. – P. 81.
18. Wolf F. I., Trapani V. Cell (patho) physiology of magnesium // Clinicalscience. – 2008. – Vol. 114(1). – P. 27-35.
19. Ziel F. H., Venkatesan N., Davidson M. B. Glucose transport is rate limiting for skeletal muscle glucose metabolism in normal and STZ-induced diabetic rats // Diabetes. – 1988. – Vol. 37(7) . – P. 885-890.
20. Halenova T. I., Raksha, N. H., Savchuk, O. M., Ostapenko L. I. Funktsionuvannya deyakykh klyuchovykh fermentiv vuhlevodnoho obminu u shchuriv za umov eksperymental'noho tsukrovoho diabetu 2-ho typu // Eksperymental'na ta klinichna fiziolojiya i biokhimiya. – 2011. – № 2 (54). – S. 13-21.
21. Honchar M. V., Smutok O. V., Os'mak H. S. Sposib kil'kisnoho vyznachennya vmistu L-laktatu u produktakh kharchuvannya ta biolohichnykh ridynakh. Patent Ukrainy 45283: 10/11/2009, Byul. № 21.
22. Drel' V. R. Osnovni mekhanizmyv ynyknennya ta rozvytku diabetychnykh uskladnen': rol' nitratyvnoho stresu // Biolohichni Studiyi. – 2010. – Vyp. 4(2). – S. 141-158.
23. Iskra R. Ya., Yanovych V. H. Intensyvniost' peroksydnykh protsesiv i aktyvnist' antyoksydantnykh enzymiv u tkanynakh shchuriv za pidvyshchenoho rivnya khromu v ratsioni // Ukrainys'kyy biokhimichnyy zhurnal. – 2011. – Т. 83, № 3. – S. 91-98.
24. Smolyar V. I., Petrashenko H. I. Alimentarni hipo- ta hipermikroelementozy // Problemy kharchuvannya. – 2005. – № 4. – S. 40-42.
25. Fediv O. I., Marchuk Yu. F., Voshyna L. O. Osoblyvosti urazhennya hepatobiliarnoyi systemy u khvorykh na tsukrovyy diabet II typu // Buk. med. visnyk. – 2008. – Т. 12. – № 4. –S. 126-131.
26. VYortkin A. L., Talibov O. B., SkotnikovA. S., GritsanchukA. M. Rol magniya i kaliya v kompleksnoy terapii komorbidnogo bolnogo // Zhurnal «LechaschiyVrach». – 2014. – Vip. 7. – S. 82.
27. Unzhakov A. R., Ilyuha V. A., Matsuk N. V., Belkin V. V. Ro lizofermentov laktatdegidrogenazyi v adaptatsiyah mlekopitayuschih Karelii // Ekologiya. Eksperimentalnaya genetika I fiziologiya. Trudyi Karelsk. nach. tsentra RAN. – 2007. – Vip. 11. – S. 118-126.
28. Barbagallo M., Dominguez L. J., Galioto A., et. al. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X // Molecular aspects of medicine. – 2003. – Vol. 24(1). – P.39-52.
29. Cefalu W. T., Hu F. B. Role of chromium in human health and in diabetes // DiabetesCare. – 2004. – Vol. 27(11). – P. 2741-2751.
30. DeFronzo R.A., Ferrannini E., Zimmet P., Alberti, G. (Eds.). (2015). International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 VolumeSet (Vol. 1). JohnWiley&Sons;
31. Fawcett W. J., Haxby E. J., Male D. A. Magnesium: physiology and pharmacology // British journal of anaesthesia. – 1999. – Vol. 83. – № 2. – P. 302-320.
32. Guerrero-Romero F., Rodríguez-Morán M. Complementary therapies for diabetes: the case for chromium, magnesium, and antioxidants // ArchMedRes. – 2005. – 36(3): – P. 250-257.
33. Mooradian A. D., Failla M., Hoogwerf B., Maryniuk M., Wylie-Rosett J. Selected vitamins and minerals in diabetes //Diabetes care. – 1994. – Vol. 17(5).). – P. 464-479.
34. Sales C. H., Pedrosa L. D. F. C. Magnesium and diabetes mellitus: theirrelation // Clinical Nutrition. – 2006. – Vol. 25. – № 4. – P. 554-562.
35. Ta S. Diagnosis and classificationofdiabetesmellitus // Diabetescare. – 2014. – Vol. 37. – P. 81.

References:

1. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B. tain. zared.. Vlizlo V. V. Laboratorni metody doslidzhen' u biolohiyi, tvarynytsvita veterynarniy medytsyni. – L'viv.: SPOLOM, 2012. – 761s.

18. Wolf F. I., Trapani V. Cell (patho) physiology of magnesium // Clinicalscience. – 2008. – Vol. 114(1). – P. 27-35.
19. Ziel F. H., Venkatesan N., Davidson M. B. Glucose transport is rate limiting for skeletal muscle glucose metabolism in normal and STZ-induced diabetic rats // Diabetes. – 1988. – Vol. 37(7). – P. 885-890.

ACTIVITY OF THE ENZYMES OF THE CARBOHYDRATE METABOLISM IN MUSCLE TISSUE OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES FOR THE COMPLEX ACTION OF MAGNESIUM AND CHROMIUM CITRATES

O. Shatynska, R. Iskra, O. Svarchevska

The aim of our research was to investigate the complex action of magnesium citrate (in the dose of 250 mg Mg²⁺/kg b.w.) and chromium citrate (in doses of 25 µg Cr²⁺/kg b.w. and 10 µg Cr²⁺/kg b.w.) on the functional state of the key enzyme of the carbohydrate metabolism in muscle tissue of rats with experimental diabetes. It was observed that the activity of the glucose-6-phosphate dehydrogenase decreased under conditions of experimental diabetes, but activity of the lactate dehydrogenase increased. At the same time, it was observed decreasing in the content of the pyruvate and increasing in the L-lactate in the muscle tissue of animals with experimental diabetes. It was determined, that the complex of magnesium and chromium citrate, which was added to the diet of the rats, caused the increasing in the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and the content of the pyruvate, and also increasing in the activity of lactate dehydrogenase and the content of the L-lactate in the muscle tissue.

Keywords: citrate, magnesium citrate, chromium, diabetes, carbohydrate metabolism.

Отримано редколегією 03.05.2017