



УДК 616.346+574.164

ВПЛИВ СУМІСНОЇ ДІЇ НІКОТИНАМІДУ, АЦЕТИЛ-L-КАРНІТИНУ І α -ЛІПОЄВОЇ КИСЛОТИ НА ОКРЕМІ ЛАНКИ ОБМІНУ ВУГЛЕВОДІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

**Ю. Т. Сергійчук¹, Т. М. Тихоненко², М. М. Гузик²,
Л. В. Яніцька³, Т. М. Кучмеровська^{1,2}**

*¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 60, Київ 01601, Україна*

²Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ 01601, Україна

*³Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
бульв. Т. Шевченка, 13, Київ 01601, Україна
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua*

Досліджено сумісний вплив нікотинаміду, ацетил-L-карнітину і α -ліпоєвої кислоти на стан окремих ланок вуглеводного обміну в мозку, серці та печінці щурів за умов цукрового діабету 2 типу. Сумісне введення нікотинаміду, ацетил-L-карнітину та α -ліпоєвої кислоти призводило до часткового зниження рівня гіперглікемії у щурів. За дії досліджуваних сполук активності гексокінази та глюкокінази, які були знижені за діабету на 62 і 84 % відповідно, порівняно з контролем, частково нормалізувалися. Вміст NAD у мозку, серці та печінці щурів, хворих на діабет, знижувався на 46, 52 і 36 %, а введення досліджуваних сполук його підвищувало, особливо в печінці. Виявлено, що співвідношення вільних NAD/NADH і NADP/NADPH пар за діабету були знижені в мозку, печінці та серці порівняно з контролем. Редокс-стан у цих тканинах нормалізувався за дії досліджуваних сполук. За діабету концентрація амінокислот у сироватці крові щурів змінювалася і частково нормалізувалася за дії досліджуваних сполук.

Отже, сумісна дія досліджуваних сполук є більш ефективною, що може знайти застосування у корекції виявлених порушень окремих ланок обміну вуглеводів та енергетичного стану за цукрового діабету 2 типу.

Ключові слова: експериментальний цукровий діабет 2 типу, нікотинамід, ацетил-L-карнітин, α -ліпоєва кислота, обмін вуглеводів.

ВСТУП

Цукровий діабет 2 типу (ЦД) є багатофакторним захворюванням, яке призводить до зниження тривалості й погіршення якості життя пацієнтів. Актуальність дослідження цієї патології полягає в тому, що з кожним роком у світі швидкими темпами зростає кількість хворих на ЦД, а за прогнозами до 2030 року вона може досягти

439 млн осіб [27]. Основним патогенетичним фактором прояву ЦД є гіперглікемія, яка супроводжується суттєвими порушеннями вуглеводного обміну, внаслідок активації поліолового та гексозамінового метаболічних шляхів, зростання вмісту кінцевих продуктів глікозилювання, метилглюксалу, активації протеїнази С і MAP тощо, які є основними механізмами розвитку діабетичних ускладнень [14]. Найбільш уразливими до підвищення рівня глюкози є серцево-судинна система, нирки та нервові волокна, порушення функціонування яких за ЦД проявляється у вигляді мікро- та макроангіопатій, нефропатій, нейропатій тощо. Розвиток ЦД супроводжується змінами показників енергетичного обміну, головною функцією якого є забезпечення організму енергією у доступній для використання формі – АТФ [13].

На даний час у терапії ЦД важливим є пошук способів корекції причин виникнення патології, зокрема порушень перебігу біоенергетичних процесів. З урахуванням того, що значна кількість патогенетичних механізмів залучена до розвитку патології, у клініці застосовується низка антидіабетичних препаратів, які переважно впливають на певні ланки обміну глюкози. Наприклад, інгібітори дипептидил пептидази IV (сітагліптин), аналоги людського глюкагонподібного пептиду (віктоза), таурин тощо [23]. Також значна увага вчених зосереджена на пошуку антидіабетичних препаратів природного походження [28]. Перспективним у цьому сенсі є застосування таких сполук як нікотинамід (NAm), ацетил-L-карнітин (АК) і α -ліпоєва кислота (α -ЛПК), яка *in vivo* може перетворюватися в дигідроліпоєву кислоту, що є більш активною формою у пригніченні продукування супероксиду (O_2^-) [5]. Крім того, кожна з цих сполук має достатньо широкий спектр дії, що може пригнічувати розвиток діабетичних ускладнень і бути ефективною за антидіабетичної терапії [18, 25, 29, 30, 34].

Тому метою нашої роботи було дослідити ефект сумісного введення досліджуваних сполук (ДС), а саме NAm, АК та α -ЛПК, на окремі ланки вуглеводного обміну в печінці, мозку та серці щурів за експериментального ЦД 2 типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експериментальний ЦД 2 типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим 2-добовим щурят розчину стрептозотоцину з розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла [16].

Тварин утримували у стандартних умовах віварію при вільному доступі до їжі та води. Дослідження проводили згідно з правилами Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та інших наукових цілях (Страсбург, 1986). У досліді використовували щурів-самців лінії Wistar масою 180–200 г через 3 місяці після індукції діабету. Тварини були розділені на 3 групи – контрольна група щурів (К), щури з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та група щурів з експериментальним ЦД 2 типу, яким протягом 14 діб внутрішньочеревно вводили NAm (“Sigma”, США) в дозі 100 мг/кг, α -ЛПК (“Фармак”, Україна) – 50 мг/кг і АК (“Sigma”, США) – 100 мг/кг маси тіла тварин (ЦД+ДС). Концентрацію глюкози визначали за допомогою приладу “Accu-check” (Roshe diagnostics, Швейцарія). Визначення рівня NAD, метаболітів енергетичного обміну (лактату, пірувату, малату, α -кетоглутарату і глутамату), а також розрахунок співвідношення вільних NAD(P)/NAD(P)H пар, з урахуванням концентрацією відповідних метаболітів і констант рівноваги дегідрогеназ, проводили у тканинах мозку, печінки та серця щурів згідно з методами [3]. Активність гексокінази (К.Ф. 2.7.1.1) визначали за

методом [22]. Активність глікогенсинтетази (К.Ф. 2.4.1.11) оцінювали за кількістю UDP, котрий вивільнився з комплексу UDP-глюкоза, як запропоновано у роботі [7]. Амінокислотний склад сироватки крові визначали методом катіонообмінної хроматографії на амінокислотному аналізаторі AAA-881 (Чехія). Статистичний аналіз здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу Microsoft Excel. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Оскільки гіперглікемія є основним критерієм розвитку та наявності ЦД як 1, так і 2 типу, важливо було визначити рівень глюкози у крові досліджуваних щурів. Нами було виявлено, що у щурів за ЦД 2 типу спостерігається значне підвищення концентрації глюкози натще в 1,8 разу порівняно з відповідними показниками контрольних щурів (табл. 1).

Таблиця 1. Концентрація глюкози крові у контрольних щурів (К), щурів, хворих на діабет (ЦД), і щурів, хворих на діабет, за дії досліджуваних сполук (ЦД+ДС), ммоль/л ($M \pm m$, $n=9$)

Table 1. Blood glucose concentration in control, type 2 diabetic and diabetic rats treated with IC, mmol/l ($M \pm m$, $n=9$)

Група	Початковий рівень глюкози у крові	Кінцевий рівень глюкози у крові
К	5,2 \pm 0,4	5,0 \pm 0,4
ЦД	8,2 \pm 0,7*	9,3 \pm 0,9*
ЦД + ДС	8,6 \pm 1,6	5,6 \pm 1,2#

Примітки: * – вірогідні різниці порівняно з контролем ($p < 0,05$); # – вірогідні різниці порівняно з показниками за ЦД 2 типу ($p < 0,05$)

Comments: * – significant difference compared with control ($p < 0.05$); # – significant difference compared with type 2 diabetes ($p < 0.05$)

Дані щодо фізіологічного стану здорових щурів, яким вводили досліджувані сполуки, у статті не наводяться, оскільки їхні біохімічні показники практично не відрізнялися від таких у контрольної групи щурів.

За одночасного введення нікотинаміду, ацетил-L-карнітину та α -ліпоєвої кислоти концентрація глюкози у крові практично досягала величини показників контролю. Виявлений коригуючий вплив на концентрацію глюкози може здійснюватися завдяки сумарному впливові сполук (NAм, АК та α -ЛК), кожна з яких має незначний гіпоглікемічний ефект [6, 20, 21, 32].

Оскільки нами підтверджено розвиток гіперглікемії за ЦД 2 типу, яка виникає як компенсаторна відповідь на резистентність до інсуліну, важливим було дослідити стан деяких ланок вуглеводного обміну в досліджуваних тканинах.

Відомо, що активності ферментів фосфорилування глюкози та глікогенсинтази за ЦД можуть надати інформацію щодо змін в обміні вуглеводів у інсулінчутливих тканинах (печінка, м'язова та жирова тканини) за розвитку цієї патології [2, 31].

Дійсно, як свідчать отримані дані (рис. 1), було виявлено зниження активності глюкокінази та гексокінази на 62 та 84 % відповідно у печінці щурів, хворих на діабет, порівняно з контролем. Не виключено, що це зниження може відбуватися внаслідок зниження концентрації глюкози всередині гепатоцитів або через порушення

гормональної регуляції цієї ланки вуглеводного обміну саме за ЦД 2 типу [1], а також шляхом зміни співвідношення вільних NAD(P)/NAD(P)H пар, яке відіграє важливу роль у клітинному метаболізмі, визначаючи швидкість і напрям зворотних реакцій оксидоредукції. Від зміни співвідношення NAD/NADH залежить анаеробний шлях окиснення глюкози, де лактат є кінцевим продуктом гліколізу та може окиснюватись у піруват, чи аеробний обмін, у якому ацетил-КоА утворений із пірувату, є субстратом циклу трикарбонових кислот. Від зміни співвідношення NADP/NADPH залежить інтенсивність ліпогенезу, де у фізіологічних умовах малат декарбоксілюється до пірувату, й утворення NADPH [33].

Введення ДС сприяло підвищенню активності ферментів фосфорилування глюкози на 70 і 79 % відповідно для глюкокінази та гексокінази порівняно з відповідними показниками за ЦД. Такий ефект ДС може досягатися за рахунок АК, який, як показано у деяких дослідженнях, здатен підвищувати чутливість клітин до інсуліну, сприяючи надходженню глюкози у клітини та подальшому її засвоєнню [26].

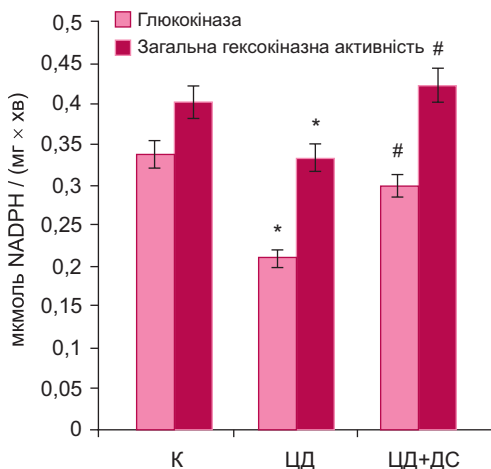


Рис. 1. Активність глюкокінази та загальна гексокіназна активність у клітинах печінки контрольних щурів (К), щурів, хворих на діабет (ЦД), і щурів, хворих на діабет, за дії досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=9$). * – вірогідні різниці порівняно з контролем ($p < 0,05$); # – вірогідні різниці порівняно з показниками за ЦД 2 типу ($p < 0,05$)

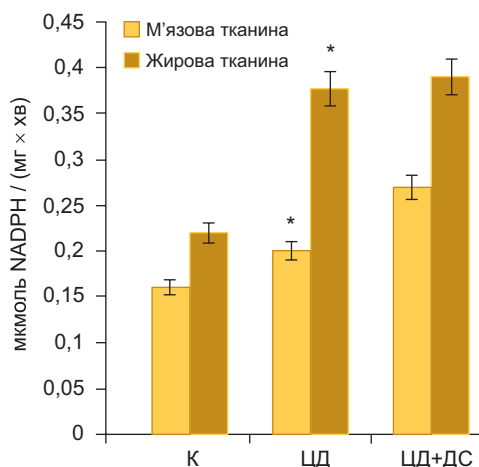
Fig. 1. Glucokinase and total hexokinase activities in hepatic cells of control, type 2 diabetic and diabetic rats treated by IC ($M \pm m$, $n=9$). * – compared with control ($p < 0.05$); # – compared with type 2 diabetes ($p < 0.05$)

Як відомо, на першій стадії метаболізму глюкози її фосфорилування каталізується гексокіназою, однак утворений глюкозо-6-фосфат може далі залучатися в один або кілька метаболічних шляхів. Тому доцільним було визначити активність ключового ферменту гліколізу – гексокінази за ЦД 2 типу лише в інсулінчутливих тканинах, зокрема в м'язовій і жировій. Як видно з даних, представлених на рис. 2, за ЦД 2 типу спостерігається підвищення активності ферменту в жировій і м'язовій тканинах на 80 і 58 % відповідно порівняно з показниками контрольних щурів, у той час як у печінці (рис. 1) вона знижується. Такі різноспрямовані зміни активності гексокінази в досліджуваних тканинах можна пояснити з огляду на те, що надходження глюкози, субстрату цього ферменту, у клітини цих тканин є органоспецифічним.

Крім того, транспорт глюкози з крові в печінку здійснюється через білок-транспортер глюкози GLUT-2, який забезпечує її доступність як субстрату для ферментів, однак за діабету, функції цього переносника порушуються [11]. За введення ДС достовірних змін гексокіназної активності у м'язовій і жировій тканинах виявлено не було.

Рис. 2. Активність гексокінази у клітинах м'язової та жирової тканин контрольних щурів (К), щурів, хворих на діабет (ЦД), і щурів, хворих на діабет, за дії досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=9$). * – вірогідні різниці порівняно з показниками контролю ($p < 0,05$)

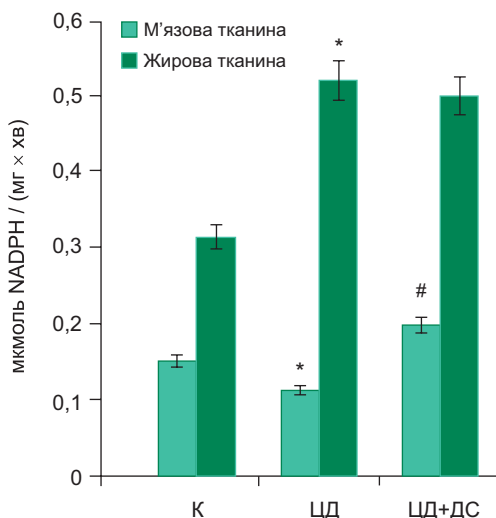
Fig. 2. Hexokinase activity in muscle and adipocytes cells of control, type 2 diabetic and diabetic rats treated by IC ($M \pm m$, $n=9$). * – compared with control ($p < 0.05$)



Оцінюючи активність глікогенсинтетази (ГС) за ЦД 2 типу, спостерігали підвищення її активності у печінці на 61 %, у той час як у м'язовій тканині активність ферменту знижувалася на 74 % порівняно з показниками контролю (рис. 3). За введення ДС достовірних змін активності ГС у печінці виявлено не було, в той час як у м'язовій тканині активність ГС підвищилася на 57 % порівняно з показниками щурів за ЦД 2 типу.

Рис. 3. Активність глікогенсинтетази у клітинах м'язової та жирової тканин контрольних щурів (К), щурів, хворих на діабет (ЦД), і щурів, хворих на діабет, за дії досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=9$). * – вірогідні різниці порівняно з показниками контролю ($p < 0,05$); # – вірогідні різниці порівняно з показниками за ЦД 2 типу ($p < 0,05$)

Fig. 3. Glycogen synthetase activity in muscle cells and adipocytes of control, type 2 diabetic and diabetic rats treated by IC ($M \pm m$, $n=9$). * – compared with control ($p < 0.05$); # – compared with type 2 diabetes ($p < 0.05$)



Унаслідок розвитку гіперглікемії та неспроможності досліджуваних ферментів вуглеводного обміну достатньою мірою засвоювати глюкозу може відбуватися порушення окисно-відновної рівноваги в багатьох тканинах організму. Тому важливо було оцінити редокс-стан у досліджуваних тканинах за ЦД 2 типу.

Відомо, що NAm, біологічно активна форма вітаміну B₃, є попередником біосинтезу нікотинамідаденіндинуклеотиду (NAD), який, у свою чергу, залучений до важливих ланок клітинного метаболізму як кофактор численних дегідрогеназ [17], субстрат cADP-рибози, ліганду ріанідинових рецепторів [12, 15], а також субстрат процесів полі(ADP-рибозилування) протеїнів [9, 19].

Як свідчать дані, представлені в табл. 2, вміст NAD у мозку, серці та печінці щурів, хворих на діабет, знижувався на 46, 52 та 36 % відповідно порівняно з показниками контролю, що може свідчити як про порушення його біосинтезу в результаті недостатності його попередників, так і про використання його пулу на реалізацію інших NAD-залежних процесів (зокрема, рибозилування протеїнів тощо), які активуються за діабету [9]. Введення ДС щурам, хворим на діабет, призводило до незначного підвищення рівня NAD у мозку, на 24 % у серці та найбільш суттєво в печінці – на 53 %.

Таблиця 2. Вміст метаболітів (мкмоль/г тканини) і редокс-стан NAD(P)/NAD(P)H пар у мозку, серці та печінці контрольних щурів (К), щурів, хворих на діабет (ЦД), і щурів, хворих на діабет, за дії досліджуваних сполук (ЦД+ДС) (M±m, n=9)

Table 2. Content of metabolites (μmol/g of tissue) and ratio of NAD(P)/NAD(P)H couples in brain, heart and liver of control, type 2 diabetic and diabetic rats treated by IC (M±m, n=9)

	Показник	К	ЦД	ЦД+ДС
Мозок	NAD	0,26±0,06	0,12±0,03*	0,14±0,01
	Лактат	2,46±0,08	3,82±0,04*	2,62±0,08#
	Піруват	0,190±0,09	0,421±0,07*	0,242±0,06#
	Малат	0,46±0,04	0,61±0,07*	0,32±0,04#
	α-кетоглутарат	0,112±0,005	0,187±0,004*	0,179±0,006
	Глутамат	2,228±0,165	4,072±1,054*	3,854±0,432#
	NAD/NADH	212±22	122±18*	178±12*
	NADP/NADPH	0,0288±0,0004	0,0117±0,00002*	0,0301±0,0003
Серце	NAD	0,25±0,03	0,13±0,02	0,17±0,06
	Лактат	3,94±1,21	5,59±1,80*	4,22±1,32#
	Піруват	0,277±0,007	0,408±0,045*	0,287±0,041#
	Малат	0,19±0,05	0,21±0,04	0,20±0,04
	α-кетоглутарат	0,314±0,012	0,452±0,042*	0,403±0,011#
	Глутамат	0,810±0,110	1,444±0,224*	1,068±0,329#
	NAD/NADH	277±15	138±12*	259±18#
	NADP/NADPH	0,0581±0,0002	0,0530±0,0005	0,0493±0,0007
Печінка	NAD	0,66±0,12	0,24±0,09	0,45±0,05
	Лактат	2,66±0,43	3,18±0,22	3,25±0,32
	Піруват	0,194±0,051	0,235±0,072*	0,142±0,076#
	Малат	0,17±0,01	0,22±0,02	0,11±0,01
	α-кетоглутарат	0,384±0,102	0,521±0,051*	0,374±0,009#
	Глутамат	2,409±0,235	3,609±0,483*	2,616±0,109#
	NAD/NADH	408±32	267±42*	348±21#
	NADP/NADPH	0,0551±0,0006	0,0356±0,0012	0,0471±0,0011

Примітки: * – вірогідні різниці порівняно з показниками контролю (p<0,05); # – вірогідні різниці порівняно з показниками за ЦД 2 типу (p<0,05).

Comments: * – compared with control (p < 0.05); # – compared with type 2 diabetes (p<0.05).

Доказом того, що за ЦД 2 типу відбуваються порушення метаболізму вуглеводів, є те, що концентрації метаболітів енергетичного обміну змінюються. Так, виявлено вірогідне підвищення рівня лактату й пірувату в мозку щурів, хворих на діабет,

в 1,5 і 2,2 разу, в серці в 1,4 і 1,47 разу, в печінці в 1,2 і 1,2 разу відповідно порівняно з показниками контролю. Під час визначення концентрації малату як одного з метаболітів циклу трикарбонових кислот виявлено, що в серці достовірних змін його концентрації не було, в той час як рівень малату підвищувався в 1,3 разу як у мозку, так і в печінці щурів, хворих на діабет, порівняно з показниками контролю (табл. 2). Інші дослідники також виявили збільшення вмісту малату в печінці щурів за експериментального діабету [10]. Також встановлено підвищення вмісту α -кетоглутарату і глутамату в мозку в 1,67 та 1,82 разу, в серці в 1,44 та 1,8 разу, в печінці в 1,35 та 1,4 разу відповідно порівняно з показниками контролю.

Виявлене підвищення рівнів лактату і пірувату свідчить про дисбаланс у співвідношенні анаеробних і аеробних процесів енергоутворення. Крім того, послаблення ефектів інсуліну в тканинах є вагомою причиною інгібування піруватдегідрогенази, внаслідок чого може посилюватися перетворення пірувату в лактат. З іншого боку, зростання рівня пірувату у щурів за ЦД 2 типу можна пояснити й порушенням функціонування циклу трикарбонових кислот, про що свідчить зростання рівнів малату, α -кетоглутарату і глутамату [8, 24]. Введення ДС сприяло вірогідному підвищенню рівнів лактату, пірувату і малату в мозку в 1,5 і 1,7 та 1,9 разів та в серці в 1,3 і 1,42 разу відповідно порівняно з показниками тварин, хворих на діабет, в той час як змін у концентрації малату в серці не було. Достовірних змін концентрації лактату в печінці тварин, яким вводили ДС, не спостерігали, а рівень пірувату і малату підвищився у 1,6 та 2 рази порівняно з показниками щурів із ЦД 2 типу (табл. 2). Використання як коригуючих сполук NAm, AK та α -ЛК сприяло зниженню рівнів α -кетоглутарату і глутамату в серці в 1,2 та 1,4 разу і в печінці в 1,4 та 1,45 разу відповідно порівняно з показниками щурів, хворих на діабет. Достовірних змін рівнів α -кетоглутарату та глутамату в мозку встановлено не було. Не виключено, що на тлі виявленого зниженого рівня NAD і метаболітів у досліджуваних тканинах співвідношення вільних NAD(P)/NAD(P)H, яке відображає напрям перебігу процесів окислення, синтезу вуглеводів і енергетичного обміну як регуляторного фактора також буде зазнавати змін [4].

Тому важливо було оцінити, як сумісна дія обраних нами сполук впливатиме на редокс-стан вільних NAD(P)/NAD(P)H пар у щурів за експериментального ЦД 2 типу. Отримані нами дані свідчать, що за ЦД 2 типу співвідношення вільних NAD/NADH та NADP/NADPH пар знижені: в мозку на 58 % та 41%, в серці співвідношення вільних NAD/NADH знижене на 50 %, а достовірних змін NADP/NADPH пар встановлено не було, а в печінці на 65 та 64 % відповідно порівняно з показниками контролю. Застосування ДС мало позитивний ефект на досліджувані показники: спостерігалось підвищення співвідношення вільних NAD/NADH та NADP/NADPH пар у мозку на 68 і 39 %, в серці на 53 % і в печінці на 76 % відповідно порівняно з контролем (табл. 2). Достовірних змін співвідношення вільних NADP/NADPH у серці та печінці не було виявлено. Тобто ДС здатні позитивно впливати не тільки на вуглеводний обмін, але і на енергетичні процеси у клітинах.

На тлі виявлених порушень, індукованих гіперглікемією, відбуваються інші патологічні незворотні процеси, зокрема неферментативна модифікація білкових молекул: рибозилування, глікозилування, фруктозилування тощо, а також можлива їх деградація. Виходячи з цього, важливим було визначити концентрацію амінокислот у сироватці крові, що може свідчити, з одного боку, про порушення засвоєння амінокислот, які надходять з їжею, а з іншого – про структурно-функціональні зміни протеїнів у тканинах щурів за ЦД 2 типу.

У сироватці крові щурів усіх дослідних груп, як видно з табл. 3, виявлені відмінності в кількісному складі вільних амінокислот.

Таблиця 3. Концентрація вільних амінокислот у сироватці крові контрольних щурів (К), щурів, хворих на діабет (ЦД), і щурів хворих на діабет, за дії досліджуваних сполук (ЦД+ДС), мг/100 мл ($M \pm m$, n=9)

Table 3. Concentration of free amino acids in blood serum of control, type 2 diabetic and diabetic rats treated by IC, mg/100ml ($M \pm m$, n=9)

Амінокислота	К	ЦД	ЦД+ДС
Аланін	3,33±0,88	3,16±0,34	3,23±0,17
Аргінін	1,95±0,66	2,52±0,35*	2,23±0,22
Аспарагінова кислота	0,28±0,05	0,42±0,02*	0,48±0,03
Валін	1,17±0,10	2,24±0,36*	0,77±0,14#
Гістидин	0,61±0,11	0,84±0,07*	0,81±0,04
Гліцин	1,06±0,23	2,74±0,29*	1,52±0,04#
Глутамінова кислота	1,93±0,33	1,93±0,43	2,03±0,43
Ізолейцин	0,64±0,08	1,35±0,14*	0,69±0,05#
Лейцин	1,27±0,76	1,30±0,15	1,08±0,02
Лізин	3,41±1,12	6,64±0,66*	3,41±0,51#
Метіонін	0,41±0,03	0,68±0,03*	0,33±0,01#
Пролін	1,55±0,22	1,55±0,12	1,55±0,11
Серин	1,62±0,21	3,31±0,14*	2,17±0,09#
Тирозин	0,87±0,09	0,8±0,15	0,79±0,14
Треонін	2,15±0,95	4,06±0,99*	2,85±0,43#
Глутамін	7,04±2,75	9,56±0,85*	10,5±0,61
Фенілаланін	0,43±0,04	1,07±0,12*	0,37±0,07#
Цистеїн	0,11±0,02	0,11±0,02	0,12±0,01
Орнітин	0,76±0,09	0,65±0,05	1,07±0,1#

Примітки: * – вірогідні різниці порівняно з показниками контролю ($p < 0,05$); # – вірогідні різниці порівняно з показниками за ЦД 2 типу ($p < 0,05$).

Comments: * – compared with control ($p < 0.05$); # – compared with type 2 diabetes ($p < 0.05$).

Встановлено, що в сироватці крові щурів за ЦД 2 типу концентрація лізину була підвищена в 1,93 разу, гістидину в 1,4 разу, аргініну в 1,3 разу, аспарагінової кислоти в 1,5 разу, треоніну в 1,6 разу, серину в 2 рази, гліцину в 2,6 разу, валіну в 1,9 разу, метіоніну в 1,65 разу, ізолейцину в 2 рази, лейцину в 1,5 разу, фенілаланіну в 2,5 разу та глутаміну в 1,35 разу порівняно з показниками контролю.

Отримані дані свідчать про те, що концентрація вільних амінокислот у сироватці крові щурів, хворих на діабет, може змінюватися в результаті різного засвоєння складових корму тварин, інтенсифікації деградаційних процесів, які призводять до руйнування білків, а також не виключено, що внаслідок інтенсифікації процесів неферментативного глікозилювання білкових молекул у клітинах [11].

Введення ДС сприяло незначному зниженню концентрацій гістидину, аргініну, треоніну в 1,42 разу, серину в 1,52 разу, гліцину в 1,8 разу, валіну в 2,9 разу, метіоніну

в 2 рази, ізолейцину в 1,95 разу та лізину до показників контролю, лейцину в 1,74 разу, фенілаланіну в 2,8 разу щодо відповідних показників за ЦД. У той же час вміст орнітину, аспарагінової кислоти і глутаміну підвищувався порівняно з ЦД 2 типу, а вміст проліну, аланіну, цистеїну, тирозину і глутамінової кислоти в усіх дослідних груп залишився незмінним.

Отже, функціональні порушення досліджуваних ланок вуглеводного обміну за гіперглікемії призводять не тільки до зміни концентрації метаболітів вуглеводного обміну, але й до дисфункції обміну білків, що свідчить про різні патогенетичні механізми, залучені до розвитку ЦД 2 типу та його ускладнень, зокрема, діабетичної кардіоміопатії та нейропатії.

ВИСНОВКИ

Виявлено, що гіперглікемія за експериментального цукрового діабету 2 типу призводить до змін активностей глюкокінази, гексокінази та глікогенсинтетази у клітинах печінки, жирової та м'язової тканин.

Показано, що вміст NAD у мозку, серці та печінці щурів, хворих на діабет, знижувався на 46, 52 та 36 %, а введення ДС його підвищувало, особливо в печінці.

Виявлено підвищення співвідношення вільних NAD(P)/NAD(P)H пар у мозку, печінці та серці за сумісної дії ДС на тлі діабету.

Зміни концентрацій амінокислот у сироватці крові щурів за ЦД 2 типу можуть свідчити як про порушення засвоєння амінокислот, так і про структурно-функціональні зміни у молекулах протеїнів, яким ДС здатні частково запобігати.

Продемонстровано коригуючий вплив сумісного застосування нікотинамід, ацетил-L-карнітину та α -ліпоєвої кислоти за цукрового діабету 2 типу на досліджувані показники обміну вуглеводів.

1. *Agius L.* Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. **Biochemical Journal**, 2008; 414(1): 1–18.
2. *Bak J., Pedersen O.* Glycogen synthase: characteristics and putative role in insulin insensitivity. **Diabetes Annals**, 1994; 8: 75–105.
3. *Bergmeyer H.* **Methods of Enzymatic Analysis**. New York, London: Verlag Chemie, 1963. – 2300 p.
4. *Bouché C., Serdy S., Kahn C. R.* et al. The cellular fate of glucose and its relevance in type 2 diabetes. **Endocrine Reviews**, 2004; 25(5): 807–830.
5. *Coleman M.D., Eason R.C., Bailey C.I.* The therapeutic use of lipoic acid in diabetes: a current perspective. **Environment Toxicology Pharmacology**, 2001; 10: 167–173.
6. *Coughlan K. A., Valentine R. J., Ruderman N. B.* AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, 2014; 7: 241–253.
7. *Danforth W. H.* Glycogen synthetase activity in skeletal muscle. **The Journal of Biological Chemistry**, 1965; 240(2): 588–593.
8. *Delarue J., Magnan C.* Free fatty acids and insulin resistance. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, 2007; 10(2): 142–148.
9. *Drel V.R., Pacher P., Stavniichuk R.* et al. Poly(ADP-ribose)polymerase inhibition counteracts renal hypertrophy and multiple manifestations of peripheral neuropathy in diabetic Akita mice. **International Journal of Molecular Medicine**, 2011; 4(28): 629–635.
10. *Eprinsev A.T., Shevchenko M. Yu., Popov V.N.* Carbohydrate metabolism in the liver of rats in food deprivation and experimental diabetes. **Biology Bulletins**, 2008; 35(1): 99–101.

11. Fahien L., MacDonald J. M. The succinate mechanism of insulin release. **Diabetes**, 2002; 51: 2669–2676.
12. Ferrero E., Buono N. L., Horenstein A. L. et al. The ADP-ribosyl cyclases – the current evolutionary state of the ARCs. **Frontiers in Bioscience**, 2014; 19: 986–1002.
13. Forbes J. M., Cooper M. E. Mechanisms of diabetic complications. **Physiology Reviews**, 2013; 93: 137–188.
14. Giacco F., Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**, 2010; 107: 1058–1070.
15. Guse A. H. Biochemistry, biology, and pharmacology of cyclic adenosine diphosphoribose (cADPR). **Current Medical Chemistry**, 2004; 11(7): 847–855.
16. Hemmings S.J., Spafford D. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 2000; 32: 905–919.
17. Imai S., Kiess W. Therapeutic potential of SIRT1 and NAMPT-mediated NAD biosynthesis in type 2 diabetes. **Frontiers Bioscience (Landmark Ed)**, 2009; 14: 2983–2995.
18. Kathirvel E., Kengathevy M., French S.W. et al. Acetyl-L-carnitine and lipoic acid improve mitochondrial abnormalities and serum levels of liver enzymes in a mouse model of nonalcoholic fatty liver disease. **Nutrition Research**, 2013; 33(11): 932–941.
19. Kuchmerovska T., Shymanskyi I., Donchenko G. et al. Poly-ADP- ribosylation enhancement in brain cells nuclei is associated with diabetic neuropathy. **Journal of Diabetes and Its Complications**, 2004; 18(4):198–204.
20. Lacroix I., Li-Chan E. Overview of food products and dietary constituents with antidiabetic properties and their putative mechanisms of action: A natural approach to complement pharmacotherapy in the management of diabetes. **Molecular Nutrition & Food Research**, 2014; 58(1): 61–78.
21. Miyata Y., Shimomura I. Metabolic flexibility and carnitine flux: The role of carnitine acyltransferase in glucose homeostasis. **Journal of Diabetes Investigation**, 2013; 4(3): 247–249.
22. Morifuji M., Sakai K., Sanbongi C. et al. Dietary whey protein increases liver and skeletal muscle glycogen levels in exercise-trained rats. **British Journal of Nutrition**, 2005; 93: 439–445.
23. Moses R. G. Combination therapy for patients with type 2 diabetes: repaglinide in combination with metformin. **Expert Review of Endocrinology and Metabolism**, 2010; 5(3): 331–342.
24. Mueckler M., Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. **Molecular Aspects of Medicine**, 2013; 34(2–3): 121–138.
25. Ribas G.S., Vargas C.R., Wajner M. L-carnitine supplementation as a potential antioxidant therapy for inherited neurometabolic disorders. **Gene**, 2014; 533(2): 469–476.
26. Ringseis R., Keller J. Role of carnitine in the regulation of glucose homeostasis and insulin sensitivity: evidence from in vivo and in vitro studies with carnitine supplementation and carnitine deficiency. **European Journal of Nutrition**, 2012; 1: 1–18.
27. Shaw J.E., Sicree R.A., Zimmet P.Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2010; 87: 4–14.
28. Stahl W., Sies H. Antioxidant defence: Vitamins E and C and carotenoids. **Diabetes**, 1997; 46(2): 14–18.
29. Thirunavukkarasu V., Nandhini A., Anuradha C.V. Lipoic acid improves glucose utilisation and prevents protein glycation and AGE formation. **Pharmazie**, 2005; 60(10): 772–775.
30. Udupa A., Nahar P., Shah S. et al. A comparative study of effects of omega-3 fatty acids, alpha lipoic acid and vitamin E in type 2 diabetes mellitus. **Annals of Medical and Health Science Research**, 2013; 3: 442–446.
31. Wilson J.E. Isozymes of mammalian hexokinase structure, subcellular localization and metabolic function. **The Journal of Experimental Biology**, 2003; 206: 2049–2057.
32. Yanga S.J., Mook Choib J., Kim L. et al. Nicotinamide improves glucose metabolism and affects the hepatic NAD-sirtuin pathway in a rodent model of obesity and type 2 diabetes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 2014; 25(1): 66–72.

33. Ying W. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. **Antioxid Redox Signal**, 2008; 10(2):179–206.
34. Yoshino J., Mills K. F., Yoon M. J. et al. Nicotinamide mononucleotide, a key NAD⁺ intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice. **Cell Metabolism**, 2011; 14(4): 528–536.

EFFECT OF COMBINED NICOTINAMIDE, ACETYL-L-CARNITINE AND α -LIPOIC ACID ACTION ON SEPARATE LINKS OF CARBOHYDRATE METABOLISM UNDER EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES

Iu. T. Sergiichuk¹, T. M. Tykhonenko², M. M. Guzyk²,
L. V. Yanitska³, T. M. Kuchmerovska^{1,2}

¹National Taras Shevchenko University, 60, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine

²Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, 9, Leontovych St., Kyiv 01601, Ukraine

³O.O. Bogomolets National Medical University, T. Shevchenko Blvd.13, Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

The effect of nicotinamide, acetyl-L-carnitine and α -lipoic acid on the separate links of carbohydrate metabolism in the brain, heart and liver of rats for type 2 diabetes it was investigated. Combined administration of nicotinamide, acetyl-L-carnitine and α -lipoic acid caused partial reduction of hyperglycemia in rats. By the action of investigated compounds activity of hexokinase and glucokinase, which were reduced under diabetes by 62 and 84 %, respectively, as compared to control was partially normalized. NAD contents in brain, heart and liver of diabetic rats were decreased by 46, 52 and 36 %, but were elevated by investigated compounds, especially in liver. It was found that ratio of free NAD/NADH and NADP/NADPH couples under diabetes were decreased in brain, liver and heart as compared to control. Redox-states in these tissues were significantly normalized by investigated compounds. Amino acid concentrations in blood serum of rats were altered and partially normalized by investigated compounds.

Thus, combined effect of investigated compounds is more effective and can be used for the correction of carbohydrate metabolism and energetic state that were changed under type 2 diabetes.

Keywords: experimental type 2 diabetes, nicotinamide, acetyl-L-carnitine, α -lipoic acid, carbohydrate metabolism.

ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ НИКОТИНАМИДА, АЦЕТИЛ- L-КАРНИТИНА, α -ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ НА ОТДЕЛЬНЫЕ ЗВЕНЬЯ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

Ю. Т. Сергійчук¹, Т. Н. Тихоненко², М. М. Гузик²,
Л. В. Яницькая³, Т. М. Кучмеровская^{1,2}

¹Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
ул. Владимирская, 60, Киев 01601, Украина

²Институт биохимии им. А.В. Палладина НАНУ, ул. Леонтовича, 9, Киев 01601, Украина

³Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца
бульв. Т. Шевченко, 13, Киев 01601, Украина

e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Исследовано совместное влияние никотинамида, ацетил-L-карнитина и α -липоевой кислоты на состояние отдельных звеньев обмена углеводов в мозге, сердце и печени крыс с сахарным диабетом 2 типа. Совместное введение никотинамида, ацетил-L-карнитина и α -липоевой кислоты приводило к частичному снижению уровня гипергликемии у крыс. При действии исследуемых соединений активности гексокиназы и глюкокиназы, которые были снижены при диабете на 62 и 84 %, по сравнению с контролем частично нормализовались. Содержание NAD в мозге, сердце и печени диабетических крыс снижалось на 46, 52 и 36 %, а введение исследуемых соединений его повышало, особенно в печени. Обнаружено, что соотношение свободных NAD/NADH и NADP/NADPH пар при диабете были снижены в мозге, печени и сердце по сравнению с контролем. Редокс-состояние в этих тканях значительно нормализовалось при действии исследуемых соединений. При диабете концентрация аминокислот в сыворотке крови крыс изменялась и частично нормализовалась при действии исследуемых соединений.

Таким образом, совместное действие исследуемых соединений оказалось более эффективным, что может найти применение в коррекции обнаруженных нарушений отдельных звеньев углеводного обмена и энергетического состояния при сахарном диабете 2 типа.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет 2 типа, никотинамид, ацетил-L-карнитин, α -липоевая кислота, углеводный обмен.

Одержано: 06.11.2014