

DOI 10.26724 / 2079-8334-2017-3-61-80-82

УДК 616-008.9-07:577.17:[616.43:616.831-675.874.25]

О. І. Бєлікова, Ю. Д. Френкель, В. С. Черно, В. О. Костенко
Миколаївський національний університет ім. В. О. Сухомлинського, ВДІЗ України
«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

ВПЛИВ ІНГІБІТОРА ЯДЕРНОГО ЧИННИКА κB НА БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ СИНДРОМУ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ В УМОВАХ ГІПОПІНЕАЛІЗМУ ТА ПРИЗНАЧЕННЯ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ВУГЛЕВОДНО-ЛІПІДНОЇ ДІЄТИ

e-mail: laboratoriyankb@ukr.net

У експерименті на 21 білому щурі досліджено вплив інгібітора ядерного чинника κB (NF- κB) амонію піролідіндітіокарбамату на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності в умовах гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням, та призначення висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти. Показано, що введення амонію піролідіндітіокарбамату (у дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень, починаючи з 30 доби експерименту) на тлі призначення щурам висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти (60 діб) та цілодобового освітлення (1500 лк протягом останніх 30 діб експерименту) зменшує концентрацію глюкози у сироватці крові, обмежує гіперінсулінемію та інсулінорезистентність, зменшує прояви дисліпопротеїнемії, гіпо- α -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, гальмує розвиток системної запальної відповіді.

Ключові слова: синдром інсулінорезистентності, гіпопінеалізм, ядерний чинник κB , вуглеводний та ліпідний обмін, системна запальна відповідь.

Робота є фрагментом НДР «Вплив біологічно активних речовин епіфізу на морфофункціональний стан вісцеральних систем організму тварин» (№ державної реєстрації 0112U002854).

Відомо, що синдром інсулінорезистентності (ІР), або метаболічний синдром, включає комплекс гормональних і метаболічних порушень, що підсилюють ризик виникнення цукрового діабету 2 типу та серцево-судинних захворювань. Молекулярною основою всіх проявів цього синдрому вважається перманентна активація ядерного чинника κB (NF- κB), наслідком чого є розвиток головних компонентів МС (ІР, системного запалення, артеріальної гіпертензії, ендотеліальної дисфункції та дисліпідемії) [1, 5].

Нещодавно виявлено, що важливим фактором розвитку ІР є десинхроноз, пов'язаний з дизрегуляцією супрахіазматичного ядра гіпоталамуса з подальшим зниженням пінеальної секреції мелатоніну (особливо при порушенні світлового режиму) [4].

Показано, що гіпопінеалізм, індукований цілодобовим освітленням протягом 5 місяців (у режимі - вдень природним світлом, а вночі електричним, інтенсивність освітлення 20-40 лк) викликає у кролів розвиток ознак синдрому ІР – інтолерантності до глюкози, артеріальної гіпертензії, гіперінсулінемії та дисліпідемії [2].

Проте роль NF- κB у механізмах розвитку головних метаболічних розладів при синдромі ІР на тлі гіпомелатонінемії залишається нез'ясованою.

Метою роботи було з'ясування впливу інгібітора NF- κB на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності в умовах гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням, та призначення висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження були проведені на 21 білому щурі лінії Вістар масою 215-255 г у 3-х серіях дослідів: у першій необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія), у другій – після моделювання синдрому ІР, у третій – протягом відтворення останнього вводили амонію піролідіндітіокарбамату (PDTC – ammonium pyrrolidinedithiocarbamate) у дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень [8], починаючи з 30 доби експерименту.

Для моделювання синдрому ІР щурам протягом двох місяців призначали висококалорійну вуглеводно-ліпідну дієту (ВВЛД), що складається з 20% водного розчину фруктози для пиття і раціону харчування, який містить наступні складові: рафінована пшенична мука - 45%, сухе знежирене коров'яче молоко - 20 %, крохмаль - 10%, столовий маргарин (зі складом жирів 72-82%) - 20%, переокиснена соняшникова олія - 4%, натрію хлорид - 1% [4]. Крім того, тварин,

починаючи з 30 доби експерименту, піддавали цілодобовому освітленню інтенсивністю 1500 лк протягом наступних 30 днів. Тварин декапітували під ефірним наркозом.

Концентрацію мелатоніну, інсуліну та фактора некрозу пухлини- α (TNF- α) у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням наборів Rat Melatonin ELISA Kit (Wuhan EIAab Sci CO., Китай), Rat Insulin ELISA Kit (MyBioSource.com, США), Rat TNF α ELISA Kit (MyBioSource.com, США). Концентрацію глюкози, загального холестеролу (ХС), триацилгліцеролів (ТАГ) та ХС ліпопротеїнів високої щільності (ХС-HDL) визначали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика». Вміст ХС ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності (ХС-LDL і ХС-VLDL) розраховували за формулою Фридвальда: ХС-LDL = Загальний ХС – (ХС-HDL + ТАГ/2,2); ХС-VLDL=ТАГ/2,2. Індекс інсулінорезистентності НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) розраховували за формулою: НОМА-IR = глюкоза натще (ммоль/л) x інсулін натще (мкОд/мл) / 22,5. Концентрацію церулоплазміну у сироватці крові визначали за методом, що базується на окисненні п-фенілендіаміну [1]. Отримані дані оброблені варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. За нашими даними, концентрація мелатоніну у сироватці крові інтактних щурів становить 31.8 ± 2.5 пг/мл. Цілодобове освітлення щурів інтенсивністю 1500 лк протягом часу призначення їм вуглеводно-ліпідного раціону зменшує вміст мелатоніну у сироватці крові – до 7.1 ± 0.7 пг/мл, що на 77.7% ($p < 0.001$) поступається даним інтактної серії та вказує на розвиток експериментального гіпопінеалізму.

Введення інгібітора NF- κ B PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВВЛД зменшує концентрацію глюкози у сироватці крові (див. табл.), яка на 35.3% ($p < 0.001$) поступається даним другої серії.

Таблиця

Вплив інгібітора NF- κ B PDTC на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності в умовах цілодобового освітлення та призначення щурам ВВЛД (M+m, n=21)

Показники	Інтактні тварини	ВВЛД + цілодобове освітлення	
		Контроль	+ PDTC
Глюкоза, ммоль/л	4.71 ± 0.23	6.89 ± 0.25 *	4.46 ± 0.25 **
Інсулін, мкОд/мл	1.51 ± 0.26	5.42 ± 0.25 *	2.36 ± 0.23 */**
НОМА-IR	0.27 ± 0.06	1.46 ± 0.27 *	0.41 ± 0.09 **
Загальний ХС, ммоль/л	1.95 ± 0.25	2.16 ± 0.24	2.02 ± 0.13
ХС-HDL, ммоль/л	0.61 ± 0.04	0.24 ± 0.04 *	0.47 ± 0.03 */**
ХС-LDL, ммоль/л	1.04 ± 0.23	0.98 ± 0.20	0.98 ± 0.16
ХС-VLDL, ммоль/л	0.30 ± 0.03	0.94 ± 0.04 *	0.58 ± 0.05 */**
ТАГ, ммоль/л	0.67 ± 0.06	2.08 ± 0.09 *	1.27 ± 0.11 */**
TNF- α , пг/мл	33.3 ± 2.3	107.5 ± 6.5 *	57.7 ± 5.2 */**
Церулоплазмін, мг/л	270.0 ± 21.1	403.6 ± 17.3 *	270.6 ± 28.7 **

Примітка: * – $p < 0.05$ у порівнянні з даними першої серії (інтактні тварини); ** – $p < 0.05$ у порівнянні з даними другої серії (ВВЛД + цілодобове освітлення).

За цих умов зменшується концентрація інсуліну у сироватці крові та індекс НОМА-IR – відповідно, на 56.5% ($p < 0.001$) та 71.9% ($p < 0.01$) у порівнянні з даними другої серії. Про підвищення чутливості тканин до інсуліну при пригніченні активації NF- κ B вже повідомлялося в літературі [5]. Раніше була виявлена здатність І κ B-кіназного комплексу викликати фосфорилування за серином субстрату інсулінового рецептора-1 (IRS-1), що пригнічує передачу інсулінового сигналу та сприяє розвитку інсулінорезистентності [6]. Зазначимо, що інгібіторна дія PDTC реалізується через пригнічення деградації І κ B [8].

Введення інгібітора NF- κ B PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВВЛД суттєво не впливає на концентрацію загального ХС та ХС-LDL, проте достовірно підвищує вміст ХС-HDL, який на 95.8% ($p < 0.001$) перевищує результат другої серії.

За цих умов зменшується концентрація ХС-VLDL і ТАГ – відповідно, на 38.3% ($p < 0.001$) і 38.9% ($p < 0.001$) у порівнянні з даними другої серії.

Раніше вже повідомлялося про здатність жирних кислот (ЖК) активувати NF- κ B через механізм його транслокації у ядро, де він зв'язується з κ B-последовностями ДНК з подальшим синтезом прозапальних цитокінів [3, 7]. Інші речовини ліпідної природи також можуть активувати NF- κ B через зв'язування з мембранними рецепторами (зокрема, TLR-4).

Дійсно, введення інгібітора NF- κ B PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВВЛД зменшує концентрацію прозапального цитокіну TNF- α і реактанту гострої фази

запалення церулоплазміну в сироватці крові – відповідно, на 46.3% ($p < 0.001$) і 33.0% ($p < 0.01$) у порівнянні з даними другої серії.

Прозапальні цитокіни, у свою чергу, також підтримують ІР через фосфорилування за серином IRS-1 [7].

Нідеумок

Введення інгібітора NF- κ B амонію піролідидітіокарбамату на тлі цілодобового освітлення та призначення шурам вуглеводно-ліпідної дієти зменшує концентрацію глюкози у сироватці крові, обмежує гіперінсулінемію та інсулінорезистентність, зменшує прояви дисліпопротеїнемії, гіпо- α -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, гальмує розвиток системної запальної відповіді.

Список літератури

1. Berkalo L. V. Metody klinichnykh ta eksperymentalnykh doslidzhen v medytsyni / L. V. Berkalo, O. V. Bobovych, N. O. Bobrova [ta in.]; Za red. I.P. Kaidasheva. – Poltava, - 2003. – 320 s.
2. Kuzminova I. A. Dinamika izmeneniy lipidnogo spektra krovi v usloviyah eksperimentalnogo gipopinealizma / I. A. Kuzminova, L. A. Bondarenko // Probl. endokrin. patologiyi. - 2006. – No.4. - S.49-55.
3. Kaidashev I. P. Aktyvatsiia NF- κ B pry metabolichnomu syndromi / I. P. Kaidashev // Fiziol. zhurn. – 2012. – T.58, №1. – S. 93-101.
4. Rapoport S. I. Melatonin i insulinozistentnost / S. I. Rapoport, A. Yu. Molchanov, V. A. Golichenkov [i dr.] // Klin. meditsina. – 2013. – No.11. – S. 8-14.
5. Talash V. V. Vplyv inhibitoriv aktyvatsii yadernoho faktora κ B na metabolizm i hemokoahuliatsiiu za umov vidtvorennia metabolichnogo syndromu / V. V. Talash, V. O. Kostenko // Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia. – 2015. – No. 2. – S. 83-89.
6. Gao Z. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex / Z. Gao, D. Hwang, F. Bataille [et al.] // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 48115-48121.
7. Tornatore L. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A.K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // Trends Cell Biol. – 2012. – Vol. 22, № 11. – P. 557-566.
8. Qin J.D. Effect of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on NF- κ B activation and CYP2E1 content of rats with immunological liver injury / J.D. Qin, Z.H. Cao, X.F. Li [et al.] // Pharm. Biol. – 2014. – Vol.52, №11. – P. 1460-1466.

Реферати

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ЯДЕРНОГО ФАКТОРА κ B НА БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СИНДРОМА ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В УСЛОВИЯХ ГИПОПИНЕАЛИЗМА И НАЗНАЧЕНИЯ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ УГЛЕВОДНОЙ-ЛИПИДНОЙ ДИЕТЫ

**Беликова О. И., Френкель Ю. Д., Черно В. С.,
Костенко В. А.**

В эксперименте на 21 белой крысе изучено влияние ингибитора ядерного фактора κ B (NF- κ B) на биохимические маркеры синдрома инсулинорезистентности в условиях гипопинеализма, индуцированного круглосуточным освещением, и назначения высококалорийной углеводно-липидной диеты. Показано, что введение ингибитора NF- κ B амония пиролиндитиокарбамата (в дозе 76 мг/кг 3 раза в неделю, начиная с 30 суток эксперимента) на фоне назначения крысам высококалорийной углеводно-липидной диеты (60 суток) и круглосуточного освещения (1500 лк в течение последних 30 суток эксперимента) уменьшает концентрацию глюкозы в сыворотке крови, ограничивает гиперинсулинемию и инсулинорезистентность, снижает проявления дислипидотеинемии, гипо- α -липидотеинемии и гипертриацилглицеролемии, тормозит развитие системного воспалительного ответа.

Ключевые слова: синдром инсулинорезистентности, гипопинеализм, ядерный фактор κ B, углеводный и липидный обмен, системный воспалительный ответ.

Стаття надійшла 7.09.2017 р.

INFLUENCE OF κ B NUCLEAR FACTOR INHIBITOR ON BIOCHEMICAL MARKERS OF INSULIN RESISTANCE SYNDROME IN HYPOPINEALISM AND HIGH-CALORIE CARBOHYDRATE-LIPID DIET

**Belikova O.I., Frenkel Yu.D., Chernov V.S.,
Kostenko V.O.**

This experiment performed on 21 white rats aimed at clear up the effect of the nuclear factor κ B (NF- κ B) inhibitor on the biochemical markers under insulin resistance syndrome in hypopinealism, induced by round-the-clock lightening, and high calorie carbohydrate-lipid diet. It was shown that the administration of the NF- κ B inhibitor ammonium pyrrolidinodithiocarbamate (76 mg / kg three times a week, starting on the 30th day of the experiment) under the conditions of maintaining high-calorie carbohydrate-lipid diet (60 days) and exposure of the test animals to round-the-clock light (1500 lux for the last 30 days of the experiment) reduces blood glucose concentration, restricts hyperinsulinemia and insulin resistance, lowers manifestations of dislipoproteinemia, hypo- α -lipoproteinemia and hypertriacylglycerolemia, as well as inhibits the development of systemic inflammatory response.

Key words: insulin resistance syndrome, hypopinealism, nuclear factor κ B, carbohydrate and lipid metabolism, systemic inflammatory response.

Рецензент Старченко І.І.