

Стан обміну сечової кислоти та зміни рівня NAD^+ у тканинах щурів за умов інсулінорезистентного синдрому, індукованого фруктозою

Н.М. Гуріна^{1*},
А.А. Шупрович¹,
О.В. Корпачева-Зінич¹,
В.В. Ховака¹,
Ю.Т. Пентек²,
М.М. Гузик²,
К.О. Дякун²,
Т.М. Кучмеровська²

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»;

²Інститут біохімії ім. О.В. Паладіна НАН України

Резюме. Гіперурикемія як прояв порушення пуринового обміну при інсулінорезистентному синдромі (ІРС) останнім часом вважається одночасно маркером ІРС і патогенетичним чинником, що призводить до розвитку дисфункцій ендотелію, порушення функції панкреатичних бета-клітин, нирок тощо. Сечова кислота (СК) – кінцевий продукт окислення пуринових сполук за участі ферменту ксантиноксидази. Оскільки акцептором електронів (кофактором) ксантиноксидази є окислений нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD^+), можна припустити, що за умов нестачі цього похідного пуринів відбуватиметься передача електронів на кисень з утворенням вільних радикалів – чинників оксидативного стресу. При цьому можна очікувати зниження рівня NO, розблокування ксантиноксидази та компенсаторного зростання продукції СК, що виконує роль вловлювача вільних радикалів. Метою роботи було вивчення взаємозв'язків між розвитком гіперурикемії та вмістом NAD^+ у різних тканинах щурів за умов експериментального ІРС, індукованого фруктозною дієтою. Виявлено, що в щурів після 8 тижнів вживання 10% розчину фруктози в якості питної води розвиток інсулінорезистентності та гіперурикемії супроводжується зниженням рівня NAD^+ , яке є найвиразнішим у тканині печінки порівняно з нирками, серцем і мозком. Зниження рівня NAD^+ у печінці, як і підвищення концентрації СК у сироватці крові та зниження активності Na^+ , K^+ -АТРази в синапсоматах мозку, виразніше в самців, тоді як самиці виявилися стійкішими до цих змін. Таким чином, підтверджено взаємозв'язок між зниженням вмісту NAD^+ у тканинах і розвитком гіперурикемії в щурів з експериментальним ІРС.

Ключові слова: експериментальний інсулінорезистентний синдром, фруктозна дієта, гіперурикемія, нікотинамідаденіндинуклеотид.

* адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; e-mail: zdovado@ukr.net

Оригінальні дослідження

У сучасному світі спостерігається дедалі зростаюче поширення серед населення різноманітних порушень обміну речовин, зокрема ожиріння, атеросклерозу і серцево-судинних захворювань (ССЗ), цукрового діабету, які називають «хворобами цивілізації». З'ясовано, що ці порушення є частиною більш загального комплексу метаболічних змін в організмі, патогенетичною основою яких є інсулінорезистентність, що викликає компенсаторну гіперінсулінемію та сукупність метаболічних зрушень, яку називають інсулінорезистентним синдромом (ІРС) [1-3].

Гіперурикемію (ГУ), як свідчать дані літератури, можна розглядати як один із маркерів і водночас патогенетичних чинників розвитку ІРС та ССЗ. Ця концепція підтверджується даними епідеміологічних проспективних досліджень, в яких виявлено взаємозв'язок підвищення рівня урикемії зі зростанням ризику розвитку ССЗ. У дослідженнях *in vitro* та в експериментах на тваринах показано, що ГУ може безпосередньо спричинити дисфункції ендотелію, що пов'язано з порушенням біодоступності NO, впливом на ренін-ангіотензинову систему, стимуляцією проліферації гладеньком'язових клітин ендотелію [4-6]. Більше того, показано, що ГУ є незалежним предиктором ожиріння та гіперінсулінемії, а також відіграє ключову роль у розвитку ІРС, індукованого фруктозою [7-9]. Ці дані обґрунтовують новітню концепцію про можливу патогенетичну роль сечової кислоти (СК) у розвитку ІРС та ІРС [7].

СК є кінцевим продуктом окислення пуринових сполук, яке відбувається за участі ферменту ксантиноксидази (ксантиндегідрогенази, ЕС 1.17.1.4). За фізіологічних умов цей фермент діє як дегідрогеназа та здійснює каталіз окислення гіпоксантину і ксантину. Кофактором даної реакції є окислений нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD^+), що виконує функції акцептора електронів [10]. За умов гіпоксії ензим функціонує як оксидаза, використовуючи замість NAD^+ молекулярний кисень та генеруючи при цьому пероксид водню і супероксид. Показано, що ксантиноксидазна система бере участь у генерації супероксидних радикалів у мишей зі стрептозотоциновим діабетом [11].

За фізіологічних концентрацій СК є компонентом системи антиоксидантного захисту, оскільки вона здатна знешкоджувати вільні радикали, а також утворювати хелатні комплекси з вільним залізом [12,13]. Водночас, у супероксидгенеруючих системах СК набуває прооксидантних властивостей [14]. За умов гіпоксії утворення СК у ксантиноксидазній реакції супроводжується від-

повідним збільшенням генерації вільних радикалів; крім того, СК стимулює активність NADPH-оксидази [15]. Отже ГУ можна розглядати як стан підвищеного ризику оксидативного стресу.

Відомо, що в організмі існує фізіологічний регуляторний механізм, який забезпечує збільшення утворення СК як «захисної» сполуки з антиоксидантними властивостями [16]. Регуляція утворення СК за умов гіпоксії опосередкована змінами концентрації NO. Показано, що за нормальних умов NO інактивує ксантиноксидазу шляхом взаємодії як із флавіновою простетичною групою ензиму, так і з іоном молібдену в активному центрі [16]. За умов оксидативного стресу зниження рівня NO призводить до розблокування ксантиноксидази і збільшення продукції СК, яка нейтралізує вільні радикали. Цей регуляторний механізм ефективний лише доти, поки ксантиноксидаза не генерує супероксидні аніони, що може відбуватися за умов гіпоксії, коли в процесі утворення СК електрони переносяться на молекулярний кисень, а не на звичайний акцептор – NAD^+ . За цих умов ксантиноксидаза здатна посилювати оксидативний стрес [17,18]. Отже, за умов гіпоксії або зниження вмісту NAD^+ ксантиноксидаза може спричинити індукцію вільнорадикальних процесів і посилення оксидативного стресу [18]. У низці експериментальних робіт показана діабетогенна дія СК, що припускає її можливу участь у патогенезі цукрового діабету [19,20].

Таким чином, спостерігається двоякий характер біологічної дії СК, що дало підстави назвати її «дволиким Янусом біохімії» [21]. З одного боку, підвищений вміст СК є чинником ушкодження деяких типів клітин, які мають відносно низький антиоксидантний потенціал, зокрема, β -клітини підшлункової залози, а також вона викликає ушкодження ендотелію. З іншого боку, СК проявляє антиоксидантні властивості в системах, які не генерують супероксиди. Завдяки своїй хімічній структурі, урати можуть вловлювати вільні радикали, захищати протеїни та ліпіди від перекисного ушкодження та неферментативного глікозилювання. Всі ці якості та властивості СК тою або іншою мірою проявляються за умов порушення її обміну.

Враховуючи те, що NAD^+ є важливим енергетичним субстратом в організмі та одночасно кофактором ксантиноксидази, метою роботи було з'ясування питання щодо наявності взаємозв'язків між порушенням обміну СК та вмістом NAD^+ у різних тканинах щурів за умов експериментального ІРС, індукованого фруктозою дієтою.

Матеріали та методи

В експериментах використано 47 щурів (23 самця і 24 самиці) масою 170-200 г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Щури дослідної групи (15 самців і 16 самиць) отримували 10% розчин фруктози в якості питної води протягом 8 тижнів. Щури контрольної групи (8 самців і 8 самиць) у той же термін споживали звичайну воду. На початку дослідження та через 8 тижнів у тварин проводили визначення маси тіла, показників вуглеводного обміну, чутливості до інсуліну, концентрації СК, тригліцеридів у сироватці крові. Щури контрольної групи підлягали тим же маніпуляціям, що і тварини дослідної групи (зважування, збір крові, збір сечі, навантажувальні тести). Сечу збирали протягом доби в спеціальних індивідуальних камерах.

Збір крові для дослідження у тварин здійснювали після 12-годинного голодування з ретробульбарного венозного синусу ока під легким ефірним наркозом. Кров центрифугували при 1000 g протягом 10 хв, відбирали сироватку і зберігали її при -20°C для подальших досліджень. Знеживлення тварин здійснювали шляхом декапітації під ефірним наркозом. Дослідження проводились із дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей. У сироватці крові тварин, а також у сечі, зібраній протягом доби, визначали концентрацію СК (із використанням фосфорно-вольфрамового реактиву) та креатиніну (пикратним методом) за допомогою наборів «Філісіт-Діагностика» (Дніпропетровськ, Україна). За результатами визначення концентрації СК і креатиніну в сироватці крові натще і в добовій сечі обчислювали величини добової екскреції і кліренсу СК і креатиніну (мл/хв) згідно з формулою [22]:

$$\frac{U \times V}{P \times 1440},$$

де U – концентрація досліджуваної сполуки у сечі (ммоль/л); P – її концентрація в сироватці крові (ммоль/л); V – об'єм добової сечі (мл); 1440 – число хвилин у добі.

Для визначення вмісту NAD^+ досліджувані тканини (нирки, печінку, серце, мозок) заморожували в рідкому азоті, подрібнювали та осаджували протеїни 6% перхлорною кислотою (HClO_4) у співвідношенні тканини до об'єму кислоти 1:5, після чого екстракти нейтралізували 45% розчином КОН. Вміст метаболіту визначали в отриманих екстрактах, позбавлених протеїнів, за ме-

тодом, який базується на відновленні NAD^+ за участі алкогольдегідрогенази (ЕС 1.1.1.1) з наступним вимірюванням поглинання розчину при 340 нм [30].

Синаптосоми головного мозку виділяли методом диференційного центрифугування в градієнті густини сахарози [31].

Метод визначення активності Na^+, K^+ -АТРази базується на спектрофотометричному визначенні кінцевого продукту АТРазних реакцій – фосфату, після утворення ним забарвленого комплексу з молібдатом амонію [32]. Середовище інкубації для визначення сумарної активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ - та Na^+, K^+ -АТРаз, кінцевий об'єм якого становив 1 мл, містило: 30-50 мкг протеїну, 130 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 3 мМ MgCl_2 , 3 мМ АТР, 0,2 мМ ЕДТА, 30 мМ імідазолу, рН 7,4, а для визначення активності тільки $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази, окрім цих складових, ще 10^{-4} М убаїну. Активність Na^+, K^+ -АТРази (АТФ-фосфогідролаза, ЕС 3.6.1.3) визначали за різницею між сумарною активністю АТРаз та активністю $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 660 нм.

Статистичне опрацювання отриманих даних проводили за допомогою стандартного пакета Microsoft Office Excel, 2003. Результати виражали як $M \pm m$. Вірогідність різниці показників між досліджуваними групами оцінювали з використанням критерію t Стьюдента, вважаючи достовірною різницю при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Вивчення показників обміну СК здійснювали на моделі ІРС із використанням високофруктозної дієти, яка нині широко використовується для вивчення механізмів порушення обміну речовин за умов ІРС [23]. Суттєвою рисою даної моделі є значне підвищення концентрації СК у сироватці крові щурів, що зумовило її вибір для даних досліджень [24-26].

В експериментальних тварин після 8 тижнів вживання фруктози відмічено збільшення маси тіла, рівня глікемії натще (що не перевищує межі норми), порушення толерантності до глюкози і зниження інсуліночутливості, виразне підвищення концентрації тригліцеридів у сироватці крові, причому в самців ступінь всіх цих зрушень був більшим, ніж у самиць, що може бути пояснено захисним впливом естрогенів у самиць [27]. Отримані дані підтверджують, що використана експериментальна модель відповідає основним ознакам ІРС.

Оригінальні дослідження

Проведення комплексного аналізу показників, що характеризують стан обміну СК, продемонструвало суттєве підвищення концентрації СК у сироватці крові тварин дослідних груп через 8 тижнів вживання розчину фруктози. Разом із тим, у тварин контрольної групи не спостерігалось достовірних змін рівнів урикемії (табл. 1, 2).

Згідно з даними літератури, рівень урикемії вище за 178 мкмоль/л у самців щурів розцінюють як гіперурикемію [28], отже визначені нами показники повністю відповідають станові гіперурикемії. Концентрація СК у самиць як до початку досліду, так і через 8 тижнів прийому фруктози вірогідно нижча, ніж у самців (табл. 2).

Відомо, що індукований фруктозою ІРС характеризується порушеннями структури та функції нирок [23,29]. Ураження нирок посилюється за високих концентрацій СК у крові та сечі, тому зниження ниркової функції може супроводжувати ознаки ІРС у тварин.

В експериментальних тварин (самців і самиць) після вживання фруктози протягом 8 тижнів спостерігається незначне зростання рівня креатиніну в сироватці крові, що вказує на деяке погіршення

функції нирок у тварин. При цьому не виявлено помітних змін кліренсу креатиніну, тобто порушення фільтраційної функції нирок у щурів не виявлено.

У дослідних групах як у самців, так і в самиць було виявлено суттєве зниження кліренсу СК, незважаючи на відсутність зниження швидкості клубочкової фільтрації, що може бути причиною зростання концентрації СК у крові, найвірогідніше, за рахунок посилення процесів реабсорбції уратів у ниркових каналцях.

Дійсно, у самців і самиць дослідних груп виявлене вірогідне зниження ІЕУ – показника, що знаходиться у зворотному взаємозв'язку із реабсорбцією СК. Через 8 тижнів прийому фруктози у тварин дослідних груп обох статей зафіксовано суттєве зниження значення ІЕУ (табл. 1, 2), що свідчить про посилення реабсорбції (зниження елімінації) уратів у цих тварин.

Крім посилення реабсорбції СК у нирках причиною ГУ у тварин за високофруктозної дієти є збільшення продукції СК, яке може бути пов'язане з посиленням синтезу пуринів *de novo*. Показником продукції СК в організмі вважається величина добової екскреції СК. Даний показник

Таблиця 1. Показники обміну сечової кислоти і креатиніну в самців щурів з експериментальним ІРС, індукованим фруктозою

| Показник | Контроль (n=8) | | Дослід (n=15) | |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | до дослідження | через 8 тижнів | до дослідження | через 8 тижнів |
| Сечова кислота сироватки крові, мкмоль/л | 141,76±4,97 | 150,29±7,92 | 116,68±8,86 | 187,44±2,93* |
| Екскреція сечової кислоти, ммоль/добу | 27,59±3,33 | 24,49±2,38 | 20,12±1,38 | 24,14±1,2* |
| Кліренс сечової кислоти, мл/хв | 0,13±0,01 | 0,12±0,01 | 0,12±0,01 | 0,08±0,01* |
| Креатинін сироватки крові, мкмоль/л | 89,02±2,12 | 89,48±1,98 | 84,34±1,33 | 97,50±3,08* |
| Кліренс креатиніну, мл/хв | 0,70 ± 0,05 | 0,70 ± 0,05 | 0,61 ± 0,03 | 0,73 ± 0,05 |
| Індекс елімінації уратів (ІЕУ), % | 18,96±1,09 | 16,67±0,89 | 20,41±1,57 | 12,56±1,6* |
| Показник реутилізації пуринів (1/ГГФРТ) | 0,28 ± 0,02 | 0,27 ± 0,02 | 0,28 ± 0,01 | 0,21±0,01* |

Примітка: * – вірогідність різниці показників у тварин різних груп до дослідження порівняно з відповідними показниками через 8 тижнів (p<0,05).

Таблиця 2. Показники обміну сечової кислоти і креатиніну в самиць щурів з експериментальним ІРС, індукованим фруктозою

| Показник | Контроль (n=8) | | Дослід (n=16) | |
|--|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | до дослідження | через 8 тижнів | до дослідження | через 8 тижнів |
| Сечова кислота сироватки крові, мкмоль/л | 84,8±2,50 [#] | 92,9±2,80 [#] | 81,83±4,40 [#] | 128,50±5,30* [#] |
| Екскреція сечової кислоти, ммоль/добу | 13,36±1,86 [#] | 11,81±1,46 [#] | 15,10±0,69 [#] | 14,43±0,94 [#] |
| Кліренс сечової кислоти, мл/хв. | 0,11 ± 0,01 | 0,08 ± 0,01 [#] | 0,14±0,01 | 0,07±0,01* |
| Креатинін сироватки крові, мкмоль/л | 72,41±4,81 [#] | 82,52±3,01 [#] | 79,74±2,49 [#] | 99,71±2,34* |
| Кліренс креатиніну, мл/хв. | 0,47±0,06 [#] | 0,38 ± 0,02 [#] | 0,50±0,03 [#] | 0,43 ± 0,02 [#] |
| Індекс елімінації уратів (ІЕУ), % | 25,15±2,00 [#] | 21,38±2,18 | 25,41±1,14 [#] | 15,5±1,70* [#] |
| Показник реутилізації пуринів (1/ГГФРТ) | 0,31 ± 0,03 [#] | 0,26 ± 0,03 | 0,34±0,02 [#] | 0,21±0,02* |

Примітка: * – вірогідність різниці показників у тварин різних груп до дослідження порівняно з відповідними показниками через 8 тижнів (p<0,05); [#] – вірогідність різниці показників у самиць різних груп порівняно з відповідними показниками в самців аналогічної групи (p<0,05) (див. табл. 1).

Таблиця 3. Рівень NAD^+ у тканинах щурів з експериментальним IPC

| Показник Тканина | NAD^+ , нмоль/г тканини | | | |
|---------------------|----------------------------------|--------------|----------------|--------------|
| | Самці | | Самиці | |
| | Контроль (n=5) | Дослід (n=5) | Контроль (n=5) | Дослід (n=5) |
| Печінка | 651±50 | 430±37* | 684±49 | 554±38* |
| Нирка | 334±28 | 214±16* | 352±27 | 344±26 |
| Серце | 279±21 | 249±23* | 398±35 | 351±31* |
| Мозок | 227±14 | 224±18 | 236±19 | 225±19 |

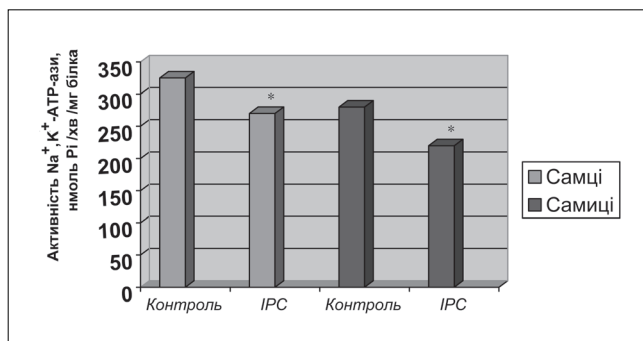
Примітка: * - вірогідність різниці показників між контрольною і дослідною групами тварин ($p < 0,05$).

вірогідно підвищився лише в самців дослідної групи і не змінився в самиць (табл. 1, 2), що відображає загальну тенденцію до більш виражених метаболічних порушень у самців під впливом високофруктозної дієти.

Нікотинамідні динуклеотиди, що містять у своєму складі пуринове похідне аденін, відіграють важливу роль в енергетичних процесах в організмі, зокрема беруть участь у функціонуванні NAD(P) -залежних дегідрогеназних систем, у продукції АТР. Крім того, досліджують їх некоферментні функції, а саме передачу сигнальної інформації [33], участь у репарації ДНК, підтримці кальцієвого гомеостазу та сигналіну Ca^{2+} [34], у регуляції генетичної активності [35].

При дослідженні рівня забезпеченості динуклеотидом досліджуваних тканин щурів було виявлено, що вміст NAD^+ у печінці дослідних тварин був знижений найбільш виразно порівняно з іншими органами, зокрема в самців на 34%, а в самок на 15% порівняно з контролем. Разом із тим за умов цукрового діабету, індукованого стрептозоцином, мало місце значне зниження рівнів динуклеотиду в цих органах. За IPC зміни були не такі

Рисунок. Активність Na^+, K^+ -АТРази синапсом головного мозку самців і самиць щурів з експериментальним IPC (n=5) і в контрольних тварин (n=5). * - вірогідність різниці показників між контрольною і дослідною групами тварин



суттєві та залежали від статі тварин (табл. 3).

Відповідно до отриманих даних можна стверджувати, що рівень NAD^+ за умов IPC виразніше знижувався в самців, тоді як самиці виявилися більш стійкими до цих змін. Більше того, нами було виявлено, що рівень NAD^+ у мозку тварин за IPC не змінювався у тварин обох статей, водночас печінка

тварин виявилася найбільш уразливою за цих умов.

Окрім виявлених за допомогою цієї моделі метаболічних порушень (підвищення рівня глікемії та СК, зменшення інсуліночутливості та зниження рівнів NAD^+), спостерігалось зниження активності Na^+, K^+ -АТРази в синапсах мозку, причому як у самців, так і в самиць активність ензиму знижувалася практично однаковою мірою – на 19% та на 21%, відповідно (рисунок). Зниження активності Na^+, K^+ -АТРази може бути обумовлено змінами властивостей клітинних мембран, які відбуваються внаслідок їх оксидативного ушкодження.

Відомо, що печінка є основною тканиною, в якій відбувається синтез і катаболізм пуринів. За умов нестачі енергетичних носіїв (NAD^+ та АТР) більш імовірним є не посилення процесів синтезу пуринів *de novo* (які потребують великих витрат АТР), а збільшення їх катаболізму, що призводить до зростання активності ксантинооксидази та утворення продукту деградації пуринів – СК. Це підтверджується отриманими нами раніше даними щодо збільшення в щурів з IPC активності ензимів, які здійснюють розпад пуринів на ранніх стадіях – аденозіндезамінази і 5'-нуклеотидази [27].

Виявлений у дослідних тварин дефіцит NAD^+ – пуриновмісного динуклеотиду, який бере участь у ксантинооксидазній реакції в якості кофактора (акцептора електронів) – може призвести до того, що ензим буде використовувати замість NAD^+ молекулярний кисень, генеруючи при цьому пероксиди. За цих умов можна очікувати зниження рівня NO, що у свою чергу викликає підвищення активності ксантинооксидази. Це сприяє необоротному окисленню пуринів з утворенням СК, розвитку гіперурикемії, оксидативного стресу і пов'язаних із ним порушень при IPC.

У цілому, експериментальна модель індукованого фруктозою IPC придатна для дослідження метаболічних та функціональних порушень за умов розвитку інсулінорезистентності та може характеризувати ранні прояви розвитку діабету 2 типу.

Висновки

1. У щурів з експериментальним ІРС, індукованим фруктозою, розвиток гіперурикемії, інсулінорезистентності та інших метаболічних порушень супроводжується зниженням рівня кофактора ксантиноксидази NAD^+ , яке особливо виражене в тканині печінки порівняно з нирками, серцем і мозком.
2. Виявлене в щурів незначне гальмування Na^+ , K^+ -АТРази нервових закінчень головного мозку свідчить про те, що за умов ІРС відбуваються сполучені зміни пасивного та активного транспорту катіонів.
3. Зниження рівня NAD^+ у печінці, як і підвищення концентрації СК у сироватці крові, більше виражене в самців, у той час як самиці виявилися стійкішими щодо розвитку цих порушень за умов експериментального ІРС у щурів.

Список використаної літератури

1. Reaven G.M. Role of insulin resistance in human disease // *Diabetes*. 1988, 37, N 12, 1595-1607.
2. Ford E.S. Risk for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence // *Diabetes Care*. 2005, 28, 1769-1778.
3. Kahn R., Buse J., Ferranini E. et al. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association for the study of Diabetes // *Diabetes Care*. 2005, 28, 2289-2304.
4. Bonora E., Bonadonna R. Hyperinsulinemia and insulin resistance are independently associated with plasma lipids, uric acid and blood pressure in nondiabetic subjects // *Diabetol*. 2002, 38th EASD Congr. PS567, A184.
5. Shinozaki K., Ayajiki K., Nishio Y. et al. Evidence for a causal role of the renin-angiotensin system in vascular dysfunction associated with insulin resistance // *Hypertension*. 2004, 43, 255-262.
6. Toma I., Kang J.J., Meer E. et al. Uric acid triggers renin release via a macula densa-dependent pathway // *J. Am. Soc. Nephrol*. 2007, 18, 156A.
7. Nagahama K., Inoue T., Iseki K. et al. Hyperuricemia as a predictor of hypertension in a screened cohort in Okinawa, Japan // *Hypertens. Res*. 2004, 27, 835-841.
8. Nakagawa T., Mazzali M., Kang D.H. et al. Hyperuricemia causes glomerular hypertrophy in the rat // *Am. J. Nephrol*. 2003, 23, 2-7.
9. Puig J.G., Ruilope L.M. Uric acid as a cardiovascular risk factor in arterial hypertension // *J. Hypertens*. 1999, 17, 869-872.
10. Pristos C.A. Cellular distribution, metabolism and regulation of xanthine oxidoreductase enzyme system // *Chem. Biol. Interact*. 2000, 129, N 1, 195-208.
11. Matsumoto S., Koshiishi I., Inoguchi T. et al. Confirmation of superoxide generation via xanthine oxidase in streptozotocin-induced diabetic mice // *Free Radic. Res*. 2003, 37, N 7, 767-772.
12. Demirbag R., Yilmaz R., Erel O. The association of total antioxidant capacity with sex hormones // *Scand. Cardiovasc. J*. 2005, 39, 172-176.
13. Patterson R.A., Horsley E.T., Leake D.S. et al. Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultrafiltrates toward LDL: Important role of uric acid // *J. Lipid. Res*. 2003, 44, 512-521.
14. Hayden M.R., Tyagi S.C. Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle // *Nutr. Metab. (Lond)*. 2004, 1, 10-308.
15. Kuzkaya N., Weissmann N., Harrison D. et al. Interactions of peroxynitrite with uric acid in the presence of ascorbate and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric oxide synthase // *Biochem. Pharm*. 2005, 70, 343-354.
16. Lee C., Liu X., Zweier J.L. Regulation of xanthine oxidase by nitric oxide and peroxynitrite // *J. Biol. Chem*. 2000, 275, 9369-9376.
17. Rumberger J.M., Peters T., Burrington C. et al. Transferrin and iron contribute to the lipolytic effect of serum in isolated adipocytes // *Diabetes*. 2004, 53, 2535-2541.
18. Zharikov S., Krotova K., Hu H. et al. Uric acid decreases NO production and increases arginase activity in cultured pulmonary artery endothelial cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2008, 295, 1183-1190.
19. Ильина И.М., Левченко Т.П., Гончарова О.А. и др. Предположение о существовании подтипа сахарного диабета 1 типа, связанного с конституциональным уратным дисметаболизмом // *Пробл. эндокр. патол*. 2004, № 4, 8-11.
20. Mancini A., Leone E., Festa R. et al. Effects of testosterone on antioxidant systems in male secondary hypogonadism // *J. Androl*. 2008, 29, N 6, 838-895.
21. Галунска Б., Паскалев Д., Янкова Т. и др. Двумікий янус біохімії: мочевая кислота - оксидант или антиоксидант? // *Нефрологія*. 2004, 8, № 4, 25-31.
22. Руководство по клинической лабораторной диагностике / под ред. Меньшикова В.В. – Москва: Медицина, 1982. 576 с.
23. Sanchez-Lozada L., Tapia E., Jimenez A. et al. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats // *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 2006, 292, F423-F429.
24. Tan H.W., Xing S.S., Bi X.P. et al. Felodipine attenuates vascular inflammation in a fructose-induced rat model of metabolic syndrome via the inhibition of NF-kappaB activation // *Acta Pharmacol. Sin*. 2008, 29, N 9, 1051-1059.
25. Galipeau D., Verma S., McNeill J. Female rats are protected against fructose-induced changes in metabolism and blood pressure // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol*. 2002, 283, N 6, H2478-H2484.
26. Song D., Arikawa E., Galipeau D. et al. Androgens are necessary for the development of fructose-induced hypertension // *Hypertension*. 2004, 43, 667-672.
27. Шупрович А.А., Гуріна Н.М., Корпачева-Зіннич О.В. Порушення обміну сечової кислоти у щурів з експериментальним інсулінорезистентним синдромом, індукованим фруктозою // *Фізіол. журн*. 2011, 57, № 1, С. 72-81.
28. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Западнюк П.В. и др. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Высшая школа, 1983. 384 с.
29. Masuo K., Kawaguchi H., Mikami H. et al. Serum uric acid and plasma norepinephrine concentrations predict subsequent weight gain and blood pressure elevation // *Hypertension*. 2003, 42, 474-480.
30. Methods of Enzymatic Analysis. Bergmeyer H.-U. (ed). New York, London: Verlag Chemie, 1963. 1064 p.
31. Abita J.P., Chicheportiche R., Schweits H., Lasdunski M. Effects of neurotoxins (veratridine, sea anemone toxin) on transmitter accumulation and release by nerve terminals in vivo // *Biochemistry*. 1977, 16, N 9, 1838-1864.
32. Rathbun W.B., Betlach M.V. Estimation of enzymatically produced orthophosphate in the presence of cysteine and adenos-

- ine triphosphate // *Anal. Biochem.* 1969, 28, N 1-3, 436-445.
33. Klaidman L., Yang J., Chang M.L., Adams J.D. Nicotinamide offers multiple protective mechanisms in stroke as a precursor for NAD⁺, as a PARP inhibitor and by partial restoration of mitochondrial function // *Pharmacology.* 2003, 69, N 3, 150-157.
34. Ziegler M. A vital link between energy and signal transduction regulatory functions of NAD(P) // *FEBS J.* 2005, 272, 4561-4564.
35. Denu J. Linking chromatin function with metabolic networks: Sir2 family of NAD (+)-dependent deacetylases // *Trends in Biochem. Sciences.* 2003, 28, 41-48.

Надійшла 11.10.2012

Состояние обмена мочевой кислоты и изменения уровня NAD⁺ в разных тканях крыс при инсулинорезистентном синдроме, индуцированном фруктозой

Н.М. Гурина¹, А.А. Шупрович¹, Л.В. Корпачева-Зинич¹, В.В. Ховака¹, Ю.Т. Пентек², М.М. Гузик², К.О. Дякун², Т.М. Кучмеровская²

¹ ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»;

² Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины

Резюме. Гиперурикемия как проявление нарушения пуринового обмена при инсулинорезистентном синдроме (ИРС) в последнее время считается одновременно маркером ИРС и патогенетическим фактором, ведущим к развитию дисфункции эндотелия, нарушению функции панкреатических бета-клеток, почек и др. Мочевая кислота (МК) является конечным продуктом окисления пуриновых соединений при участии фермента ксантиноксидазы. Поскольку акцептором электронов (кофактором оксидазы) является окисленный никотинамидениндинуклеотид (NAD⁺), можно предположить, что при недостатке этого пуринового производного будет происходить передача электронов на кислород с образованием свободных радикалов – факторов оксидативного стресса. При этом можно ожидать компенсаторного увеличения продукции МК, являющейся ловушкой свободных радикалов в сыворотке крови. Целью работы было изучение взаимосвязей между нарушением обмена МК и содержанием NAD⁺ в разных тканях крыс в условиях экспериментального ИРС, индуцированного фруктозой. Выявлено, что у крыс после 8 недель потребления 10% раствора фруктозы в качестве питьевой воды развитие инсулинорезистентности и гиперурикемии сопровождалось снижением уровня NAD⁺, которое особенно выражено в ткани печени по сравнению с почками, сердцем и мозгом. Снижение уровня NAD⁺ в печени, как и повышение концентрации МК в сыворотке крови, а также снижение активности Na⁺,K⁺-АТФазы

в синапсоммах мозга более выражено у самцов, в то время как самки оказались более устойчивыми к этим изменениям. Таким образом, на модели ИРС у крыс подтверждена взаимосвязь между снижением содержания NAD⁺ в тканях и развитием гиперурикемии в условиях экспериментального ИРС.

Ключевые слова: экспериментальный инсулинорезистентный синдром, фруктозная диета, гиперурикемия, никотинамидениндинуклеотид.

State of uric acid metabolism and changes of NAD⁺ level in different tissues of rats under insulin resistance syndrome induced by fructose

N.M. Gurina¹, A.A. Shuprovich¹, O.V. Korpacheva-Zinych¹, V.V. Khovaka¹, Yu.T. Pentek², M.M. Guzyk², K.O. Diakun², T.M. Kuchmerovska²

¹State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine";

²A.V. Palladin Institute of Biochemistry, Natl Acad. Sci. of Ukraine

Summary. Hyperuricemia, as a manifestation of a disorder of purine metabolism in insulin-resistance syndrome (IRS), is considered both a marker of IRS and a pathogenetic factor that promotes development of endothelial dysfunctions, a disturbances of pancreatic beta cells, kidney etc. functions. Uric acid (UA) is the end product of purine compounds oxidation by xantine oxidase. Since the acceptor of electrons (cofactor of xantine oxidase) is NAD⁺, it can be assumed that deficiency in this purine derivate will lead to a transfer of electrons to oxygen with formation of free radicals – the factors of oxidative stress. The purpose of the work was to study the interactions between UA dysmetabolism and NAD⁺ content (as energy substrate and coenzyme of xantinoxidase) in various tissues of rats with experimental IRS induced by fructose diet. It is shown that in rats, after 8 weeks of 10% fructose solution using drinking water, development of insulin resistance and hyperuricemia was accompanied by a decrease in NAD⁺ level, being especially expressed in the liver compared to kidneys, heart and brain. Moreover, a decline in NAD⁺ in the liver and an increased UA serum concentration, as well as a reduction in Na⁺,K⁺-ATPase activity in brain synaptosomes, were more expressed in males, while females were more resistant to changes in energy processes and to an increased uricemia in experimental IRS.

Keywords: experimental insulin resistance syndrome, hyperuricemia, fructose diet, NAD.