

О. Костюк, І. Степанова, П.Г. Костюк

## Зміни взаєморегуляції внутрішньоклітинних кальційрегулюючих структур при цукровому діабеті

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

**Ключові слова:** діабет • нейропатія • кальцій

**Ц**укровий діабет становить собою одну з найбільш поширених хвороб з недостатньо дослідженим патогенезом. Особливу увагу привертають до себе діабетичні нейропатії через їх визначений больовий синдром. Питання про виникнення такого больового синдрому та його проведення є одним з найбільш цікавих та малодосліджених питань патогенезу ускладнень цукрового діабету.

Кальцій становить собою важливий регулятор багатьох внутрішньоклітинних процесів, включаючи виділення нейротрансмітерів, передачу процесу збудження по клітині, процеси екзоцитозу, експресію генів. Він також є критичним месенджером при активації внутрішньоклітинних кальційзалежних процесів. Останнє питання навело нас на думку про можливий взаємозв'язок між кальційрегулюючими структурами як в нормі так і в патології.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводились на щурах лінії Wistar за допомогою флуорисцентного зонду Індо 1/AM у контрольних тварин та у тварин зі стрептозотин (СТЗ) індукованим діабетом, при рівні гіперглікемії 26 ммоль/л. При цьому СТЗ вводився щурам двічі з розрахунку 80 мг на кг ваги. Проведення проби на можливість токсичної дії проводилось двічі - після першого тижня введення СТЗ та на четвертому тижні після введення СТЗ. Дослідження взаємодії внутрішньоклітинних структур проводилось за допомогою аплікації протонофору CCCP та кофеїну у контролі та при. СТЗ-індукованому діабеті на 5-6 тижні після введення СТЗ.

Дослідження рівню кальцію у нейронах проводилось за допомогою флуорисцентного зонду Індо-1/AM після деполяризації нейронів за допомогою прикладання розчину KCl. Для дослідження кальцію у цитозолі, мітохондріях та ендоплазматичному ретикулумі (ЕР) проводилась аплікація 30 мкмоль кофеїну та 10 мкмоль протонофору CCCP. Загалом обстежено 30 клітин.

**Результати та їх обговорення.** Оцінка взаємного впливу мітохондрій та ЕР на формування внутрішньоклітинних кальцієвих транзєнтів у контрольних тварин проводилась за допомогою порівняння кальцієвих сигналів у контрольних умовах та при заблокованому ЕР (попередня аплікація тапсигаргіну) або заблокованих мітохондріях (аплікація CCCP). Визначення зміни CICR при прикладанні кофеїну у ЕР призводило до зниження амплітуди кальцієвого сигналу та поширенню часу його напівспаду (тобто зміни швидкості CICR викликаного деполяризацією плазматичної мембрани на 35 % порівняно з контролем. Блокування мітохондрій призводило до зростання амплітуди кальцієвого сигналу на 39% порівняно з контролем і істотно змінювало кінетику досліджуваного транзєнта. Так, тривалість фази наростання у мітохондріях в порівнянні з контролем - підвищувалась у

чотири рази, а фаза спаду втрачала чітко виражене плато. Такі результати свідчать про швидке, переважające накопичення кальцію мітохондріями та його повільне вивільнення цими органелами у контрольних умовах. В той же час як показано в дослідженнях у формуванні таких внутрішньоклітинних транзєнтів приймає активну участь ріанодін-чутливий ЕР, переважно за рахунок вивільнення іонів кальцію через механізм кальцій індукованого вивільнення кальцію (CICR). Досліди по аплікації CCCP на фоні преаплікації кофеїну показали, що мітохондрії приймають активну участь не тільки у обміні іонів  $\text{Ca}^{2+}$ , що надходять з позаклітинного середовища, а і тих іонів, що вивільняються з депо. При кофеїніндукованому кальцієвому транзєнті захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями починалося через 3-6 сек від початку аплікації кофеїну, досягало максимального рівню на 12-16 сек спаду транзєнту, а процес виведення  $\text{Ca}^{2+}$  з мітохондрій починав переважати на 30 сек від початку формування транзєнту.

При СТЗ-індукованому цукровому діабеті базальний рівень кальцію збільшувався та становив  $127 \pm 5$  нМ ( $n = 11$ ) порівняно з  $118 \pm 9$  нМ ( $n=40$ ) у контролі. Аплікація кофеїну у нейронах тварин, хворих на діабет викликала кальцієві сигнали з амплітудою на 33% нижче такої у контролі, що може свідчити про пригнічення кальцій обмінних функцій ЕР в умовах діабету. При прикладанні іонного протонофору CCCP суттєво знижувалась амплітуда кальцієвих транзєнтів, що свідчить про суттєве зменшення накопичення кальцію мітохондріями та зміни функції  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  обмінника. Значно пригнічувався в цих умовах і взаємний обмін  $\text{Ca}^{2+}$  між мітохондріями та ЕР (амплітуда кальцієвих сигналів, викликаних прикладанням CCCP на спаді кофеїну індукованого кальцієвого транзєнту в умовах діабету знизилась до  $140 \pm 16$  нМ порівняно з  $223 \pm 42$  нМ у контролі). При цьому відбувалось додаткове підвищення рівню базального  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Висновки.** 1. Отримані результати свідчать про чітку взаємодію кальцієвого обміну між мітохондріями та ендоплазматичним ретикулумом у контрольних умовах, що може бути обумовлене близькістю розташування цих структур.

2. Взаємодія ріанодін-чутливого ендоплазматичного ретикулуму та мітохондрій відмічається і при патологічних станах (наприклад, при діабетичній нейропатії) зміни у функції внутрішньоклітинних кальцій регулюючих структур, але при цьому але при цьому суттєво пригнічується.

3. Одночасне пригнічення функції мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму може свідчити про порушення окислювального фосфорилування та пригнічення функції SERCA, що дозволяє припустити переважне значення зміни функції мітохондрій при діабетичній нейропатії, обумовленій розвитком цукрового діабету.