

УДК 577.164+577.151. 33:616

ВМІСТ ВІТАМІНУ В₂ ТА АКТИВНІСТЬ СУКЦИНАТ-ДЕГІДРОГЕНАЗИ ЗА ВВЕДЕННЯ ІНСУЛІНУ І КОМПЛЕКСУ ВІТАМІНІВ ШУРАМ З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ

Будняк О. К.

Одеський державний університет, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 270026, Україна

Встановлено, що алоксановий діабет знижує в деяких органах шурів (нирки, серце) вміст усіх форм вітаміну В₂, особливо ФАД. З цими змінами певною мірою корелює і активність сукцинатдегідрогенази (К.Ф.І.3.99.1), хоча вона і більш відчутно реагує на дану патологію. Ін'єктування хворим тваринам інсуліну, вітамінного комплексу (В₁, ФМН, нікотинамід, В₃, В₆, ліпоєва кислота), а тим більше сумісне застосування цих біологічно активних речовин призводило до більш значного коригуючого ефекту на показники, що вивчалися.

Ключові слова: алоксановий діабет, вітамінний комплекс, інсулін, рибофлавін, сукцинатдегідрогеназа.

Одна з характерних ознак цукрового діабету — підвищена екскреція рибофлавіну (далі РФ) з сечею [3] (у 1,3 — 6 разів, порівняно із здоровими людьми [5, 6]), причому як при стандартній дієті, так і при навантаженні вітаміном [2, 9]. У моделі стрептозотоцинового та алоксанового діабету виявлено зменшення вмісту флавінаденіндинуклеотиду (далі ФАД) у печінці шурів і суми всіх флавінів [3, 7]. Рівень (РФ + ФМН) в усіх клітинних фракціях у зв'язку з цим трохи підвищувався, а ФАД — тільки у ядрах. Підвищення виведення РФ з сечею прогресує із збільшенням давнини захворювання і виявляє майже пряму залежність від рівня глікемії та глюкозурії [1, 4, 5]. Зниження вмісту РФ у тканинах викликає спад активності ФАД-залежних ферментів: сукцинатдегідрогенази (далі СДГ) та інших [3]. Уведення РФ здоровим людям викликає помітний гіпоглікемічний ефект. У хворих цукровим діабетом подібний ефект також спостерігався, але був нестійким [2]. Все це свідчить про необхідність дослідження статусу вітаміну В₂ при цукровому діабеті. При захворюванні змінюється також, крім РФ, обмін інших вітамінів групи В. Тому автори [9] рекомендують використовувати поряд з РФ тіамін та нікотинову кислоту у комплексній терапії цукрового діабету. Необхідно додатково приймати і ряд інших вітамінів [4]. У зв'язку з наведеним, мета нашої роботи — визначити вплив алоксанового діабету на вміст різних форм вітаміну В₂ та на активність СДГ в органах шурів, а також оцінити вплив вітамінного комплексу (далі ВК) на ці показники.

Матеріали і методи

Експерименти виконували на щурах Вістар масою 180—200 г. Для створення моделі діабету тваринам вводили внутрішньочеревинно алоксан у дозі 150 мг/кг ваги. Інсулін, вітаміни вводили за 3 дні до забою. Доза інсуліну становила 10 од/кг,

дози вітамінів у ВК були такими: В₁-6, ФМН (рибофлавінмононуклеотид) — 2, НА (нікотинамід) — 20, ЛК (ліпоева кислота) — 2, В₃ — 25, В₆ — 5 мг/кг при внутрішньом'язовому введенні. Всім контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин (далі ФР) у такому ж об'ємі. В органах щурів визначали вміст різних форм РФ [10] та активність СДГ [8]. Варіантів дослідів (груп тварин) було п'ять. Група 1) становила контроль-1 (ФР). Усі інші групи щурів — з алоксановим діабетом: 2) Контроль-2 (ФР). 3) Інсулін. 4) ВК. 5) (Інсулін+ВК). У групах 2—5 рівень глюкози у крові тварин становив 290—300 мг%. У печінці та мозку визначали також ФАД-ефект, тобто приріст активності СДГ після додавання у проби ФАД у концентрації 1 мМ/пробу. Значення ФАД-ефекту визначали відношенням активності СДГ до і після додавання ФАД. Ця концентрація є оптимальною і встановлена нами раніше у спеціальних дослідженнях.

Результати досліджень

Результати визначення вмісту різних форм флавінів у органах щурів наведені в таблиці 1. За даних умов експерименту ми не виявили суттєвих змін усіх форм флавінів у печінці та нирках у діабетних (контроль-2) щурів порівняно з інтактними (контроль-1). У мозку рівень загальних флавінів і ФАД підвищувався відповідно на 13 та 50%, а у серці знижувався на 11 і 14%, у порівнянні з контрольними, що певною мірою можна пояснити перерозподілом флавінів у організмі і неоднаковим ураженням органів.

Таблиця 1

Вплив інсуліну та ВК на вміст різних форм вітаміну В₂ у органах щурів з алоксановим діабетом (мкг/г тканини), n=7

Органи	Показник	Контроль 1	Діабет			
			Контроль 2	Інсулін	ВК	Інсулін + ВК
печінка	ЗФ	32,18	33,0	35,2	35,41	30,8
	ФАД	21,26±2,11	22,25±2,30	26,40±3,40	25,33±1,30	21,7±1,21
	РФ + ФМН	10,92±1,63	10,75±1,49	8,80±1,41	10,08±0,52	9,1±0,45
	% ФАД	67,70	67,42	75,0	71,53	70,45
нирки	ЗФ	36,15	32,53	42,06	39,48	39,90
	ФАД	20,31±1,15	18,53±0,92	23,71±1,28 ^x	21,74±1,47	24,21±1,61 ^x
	РФ + ФМН	15,84±0,76	14,0±0,71	18,35±0,96 ^x	17,74±0,87 ^x	15,69±0,44
	% ФАД	56,18	56,96	56,37	55,07	60,68
мозок	ЗФ	13,92	15,98	14,72	14,28	13,02
	ФАД	3,95±0,19	5,93±0,12 [*]	6,42±0,27 [*]	6,92±0,28 [*]	5,93±0,18 [*]
	РФ + ФМН	9,97±1,11	10,05±0,54	8,31±0,37 ^x	7,36±0,27 [*] x	7,09±0,31 [*] x
	% ФАД	28,38	37,11	43,61	48,46	45,54
серце	ЗФ	25,62	23,15	19,74	27,30	27,72
	ФАД	13,83±0,63	11,86±0,41 [*]	9,71±0,31 [*] x	14,82±0,48 ^x	18,77±0,61 [*] x
	РФ + ФМН	11,79±0,51	11,29±0,41	10,03±0,33	12,48±0,42	8,95±0,33 [*] x
	% ФАД	55,88	51,23	49,19	54,29	67,71

Примітки: * — відмінності від контролю-1 достовірні, $p < 0,05$; ^x — відмінності від контролю-2 достовірні, $p < 0,05$; ЗФ — загальні флавіни.

Уведення інсуліну підвищувало вміст ФАД та (РФ + ФМН) у нирках на 28 і 30% у порівнянні з контролем-2. В мозку рівень ФАД перевищував значення інтактних у 1,6 разів, а (РФ+ФМН) знижувався на 17% відносно контролю-2. У серці рівень ФАД був нижчим, ніж в обох контролях. У печінці підвищувався лише рівень ФАД (на 18%), у серці зміни були недостовірні.

Уведення вітамінного комплексу підвищувало вміст фракції (РФ+ФМН) у нирках відносно контролю-2, а у мозку — відносно обох контролів. Рівень ФАД підвищувався у мозку в 1,75 разів порівняно з інтактними, а у серці — в 1,25 рази щодо контролю-2. В інших органах також спостерігалась тенденція до зростання вмісту ФАД, але вона була менш виразною (10-15%). Спільне введення (Інсулін + ВК) підвищувало рівень ФАД у нирках відносно контролю-2, у мозку — відносно контролю-1, а в серці — порівняно з обома контролями. Фракція (РФ + ФМН) кількісно зменшувалася і в серці і в мозку щодо обох контролів.

Таким чином, значних змін у вмісті і співвідношенні вітаміно-активних форм рибофлавіну у щурів з алоксановим діабетом нами не виявлено. Щодо ін'єкцій ВК, інсуліну, особливо їх сумісного застосування, то вони значно підвищують процентну частку ФАД у загальному вмісті флавінів.

Зміни активності СДГ, що отримані на цих же експериментальних групах тварин, наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив інсуліну та ВК на активність СДГ (мкмоль/г/хв)
та величину ФАД-ефекту в органах щурів з алоксановим діабетом, n = 7

Органи	Показник	Контроль 1	Діабет			
			Контроль 2	Інсулін	ВК	Інсулін + ВК
печінка	СДГ	2968 ±315	2695 ±146	3119 ±148	2695 ±134	2967 ±207
	ФАД-ефект	1,04	1,02	1,05	1,09	1,04
нирки	СДГ	5146 ±316	5031 ±89	5242 ±564	5107 ±216	7147 ±188* ^x
мозок	СДГ	1286 ±110	887 ±66*	999 ±110	997 ±47*	1155 ±54 ^x
	ФАД-ефект	1,20	1,30	1,54	1,09	1,24
серце	СДГ	3941 ±267	3977 ±180	4126 ±427	4701 ±127* ^x	4714 ±244 ^x

Примітки: * — відмінності від контролю-1 достовірні, $p < 0,05$; ^x — відмінності від контролю-2 достовірні, $p < 0,05$.

У цьому випадку спостерігались приблизно такі ж закономірності, як і у випадку ФАД (табл.1), проте вираженість змін була більш істотною. Ефективність сумісної дії інсуліну і ВК була найбільшою, в результаті чого активність ферменту ставала іноді (нирки, серце) достовірно вищою, ніж у інтактних тварин. У нирках, мозку і серці збільшення активності було достовірним порівняно з контролем-2, а в нирках — із контролем-1.

Таким чином, слід зазначити, що повної кореляції між активністю СДГ і рівнем

ФАД у досліджених органах і варіантах експерименту не спостерігалось, хоча основні закономірності були схожими. Про складність механізмів впливу діабету на цей фермент і забезпеченість вітаміном B_2 у формі ФАД, говорить і вивчення ФАД-ефекту. З цих дослідів випливає, що діабет порушує чутливість СДГ до ФАД, а інсулін її відновлює і навіть підвищує порівняно з інтактними тваринами.

Література

1. Вржесинская О. А., Коденцова В. М., Харитончик Л. А., Трофименко Л. С., Спиричев В. Б. Критерии обеспеченности организма детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом, витаминами B_1 , B_2 и B_6 . // *Вопр. мед. химии.* — 1995. — Т. 41. — Вып. 6. — С. 58—62.
2. Карпов Л. М. Реализация специфической активности функционально связанных витаминов группы "В", их производных и комплексов при различных состояниях организма: Дисс... д-ра биол. наук: 14.00.25. — Одесса, 1994. — 505 с.
3. Коденцова В. М., Вржесинская О. А., Сокольников А. А., Алексеева И. А., Спиричев В. Б. Обмен рибофлавина и функционально связанных с ним витаминов группы В при инсулинзависимом сахарном диабете // *Вопр. мед. химии.* — 1993. — Т. 39. — Вып. 3. — С. 25—31.
4. Коденцова В. М., Вржесинская О. А., Сокольников А. А., Трофименко Л. С., Дронова В. И., Спиричев В. Б. Обмен витаминов у детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом. Влияние длительности заболевания, его тяжести и степени нарушения обмена веществ // *Вопр. мед. химии.* — 1994. — Т. 40. — Вып. 4. — М.: Медицина. — С. 33—38.
5. Коденцова В. М., Вржесинская О. А., Сокольников А. А., Харитончик Л. А., Спиричев В. Б. Обмен витаминов группы В у больных с инсулинзависимой и инсулиннезависимой формами сахарного диабета // *Вопр. мед. химии.* — 1993. — Т. 39. — Вып. 5. — С. 26—29.
6. Коденцова В. М., Пустограев Н. Н., Вржесинская О. А., Харитончик Л. А., Переверзева О. Г., Якушина Л. М., Трофименко Л. С., Спиричев В. Б. Сравнение обмена водорастворимых витаминов у здоровых и страдающих инсулинзависимым сахарным диабетом детей в зависимости от содержания витаминов в рационе // *Вопр. мед. химии.* — 1996. — Т. 42. — Вып. 2. — С. 153—158.
7. Кузнецова А. Н., Шестоналова В. М. Обмен рибофлавина и его нуклеотидов в субклеточных фракциях печени крыс при аллоксановом диабете // *Вопр. питания.* — 1975. — № 1. — С. 21—24.
8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учеб. пособие / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленингр. ун.-та, 1982. — 272 с.
9. Рысс С. М. Витамины. — Л.: Гос. изд. мед. инст. — 1963. — 375 с.
10. Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. — М: Мир. — 1965. — 484 с.

СОДЕРЖАНИЕ ВИТАМИНА B_2 И АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТ-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ОРГАНАХ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ И ПРИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

Будняк А. К.

Одесский государственный университет, кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 270026, Украина

Резюме

При аллоксановом диабете в некоторых органах крыс (почки, сердце) снижается содержание всех форм витамина B_2 , особенно ФАД. В какой-то степени с этими изменениями коррелирует и активность сукцинатдегидрогеназы (К. Ф. 1.3.99.1). Инъекции животным с этой формой диабета инсулина и витаминного комплекса (B_1 , B_3 , ФМН, никотинамид, B_6 , липоевая кислота), оказывали более значительный корригирующий эффект на изучаемые показатели, особенно при их совместном введении.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, сукцинатдегидрогеназа, витамин B_2 , инсулин, витаминный комплекс.

**VITAMIN B₂ CONCENTRATION AND SUCCINATE DEGIDROGENASE
ACTIVITY IN RAT ORGANS IN THE CASE OF ALLOXAN DIABETES**

Budniak A.K.

Odessa State University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 270026, Ukraine

Summary

It was established that alloxan diabetes decreases vitamin B₂ and especially FAD concentrations in rat kidneys and heart. Succinate dehydrogenase activity correlates with changes in vitamin B₂ quantities. Injections of combined of insulinum and vitamin complex (B₁, FMN, nicotinamide, B₃, B₆ and lipoic acid) to the rats with alloxan diabetes normalize vitamin B₂ status and succinate dehydrogenase activity.

Key words: vitamin B₂, succinate degidrogenase, alloxan diabetes, insulinum, vitamin complex.