

## ВПЛИВ ІНУЛІНУ НА СТАН ПРОТЕОЛІЗУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДІАБЕТУ

*Інститут стоматології АМН України, Одеса,  
\*Обласна клінічна лікарня, Одеса*

У патогенезі цукрового діабету активації протеолізу відводиться особливе місце через певні причини: молекула інсуліну є чутливим до протеолізу білковим субстратом не тільки для специфічної протеази інсулінази, але і для інших протеаз [1; 2]; активація тканинного протеолізу при діабеті включена в механізм глюконеогенезу, при якому вільні амінокислоти (продукт протеолізу) використовуються для утворення глюкози [3]; надмірний протеоліз при діабеті зумовлює виникнення і тяжкість деструктивних процесів при цьому захворюванні [4; 5].

В той же час відомо, що активація тканинного протеолізу є лише однією з ланок розвитку діабетичних ускладнень [6]. Сучасні уявлення про патогенез розвитку неінфекційних захворювань (у тому числі і цукрового діабету) передбачають обов'язкову участь умовно-патогенної мікрофлори, що постійно присутня в макроорганізмі [7–9]. На рис. 1 показано, що різні патогени (у разі цукрового діабету це може бути глюкоза, глюкозовані білки та інші метаболіти, що виникають при цьому захворюванні) спричиняють суттєві зміни в антимікробних системах організму і, як наслідок, в стані фізіологічної мікробної системи [10]. Надмірний ріст умовно-патогенної мікрофлори призводить до значного зростання концентрації біологічно активних бактеріальних продуктів (ліпополісахаридів, токсинів та ін.), які діють на чутливі клітини (лейкоцити, ендотеліоцити) і спричиняють активацію прозапальних ферментів (фосфоліпази А<sub>2</sub>, циклооксигенази)

і біосинтез прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП-α). Спільна дія цитокінів і ейкозаноїдів обумовлює розвиток запалення [11], маркерами якого є продукти пероксидації ліпідів [12] і висока активність тканинних протеаз [13].

У регуляції фізіологічної мікробної системи значну роль відіграють речовини, які стимулюють розвиток промікробних бактерій (біфідобактерій, лактобацил) і тим самим забезпечують стан нормобіозу, при якому стримується ріст умовно-патогенної мікрофлори. Ці речовини отримали назву пребіотиків [14–16]. Одним із таких пребіотиків є інулін [17].

**Метою** даної роботи стало вивчення впливу пребіотика інуліну на активність протеаз у підшлунковій залозі, печінці та сироватці крові щурів за умов експериментального стрептозотоцинового діабету.

### Матеріали та методи дослідження

Експериментальний цукровий діабет спричинювали у 40 білих щурів лінії Вістар віком 6–8 міс (маса 250–300 г) обох статей шляхом внутрішньочеревного введення стрептозотоцину (СН- (метилнітрозокарбамон) -α-Д- (глюкозамін) дозою 40 мг одноразово. Усі піддослідні щури були розподілені на 4 групи:

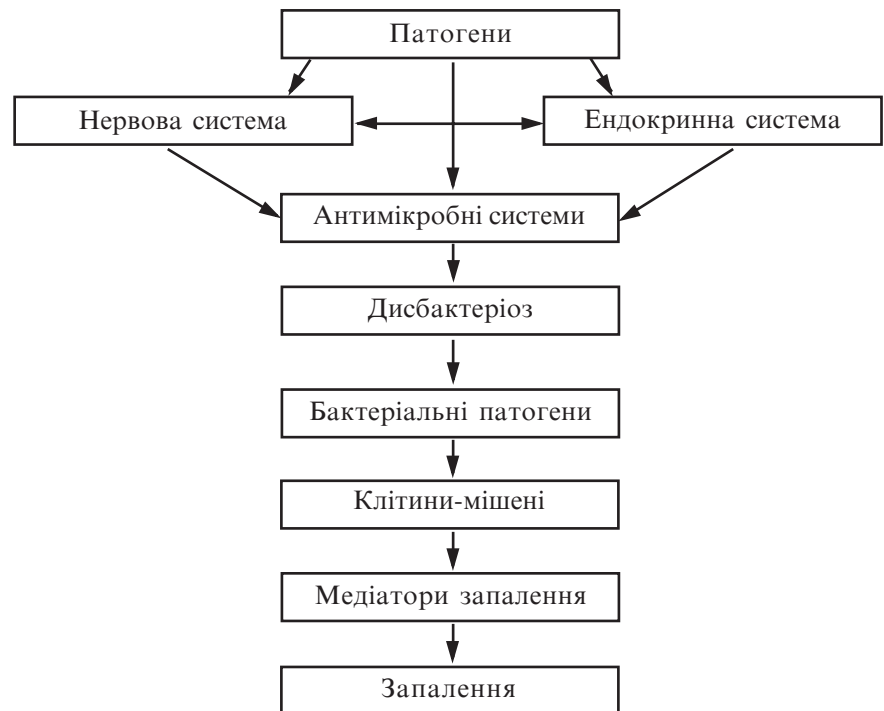


Рис. 1. Схема розвитку запальних процесів з участю умовно-патогенної мікрофлори

— I група досліджувалася на 10-й день після введення стрептозоточину;

— II група щурів досліджувалася на 25-й день;

— III група одержувала з 2-го дня після введення стрептозоточину препарат інулін із цикорію (ТУ У 15.8-13903778-93-2003, виробництва НВА «Одеська біотехнологія») дозою 2 г/кг *per os*, забій тварин проводили на 10-й день після введення стрептозоточину;

— IV група аналогічна III, тільки дослідження щурів проводили на 25-й день.

Контролем служили 8 щурів такого ж віку, котрим щодня *per os* вводили воду.

Досліджували гомогенати підшлункової залози та печінки, а також сироватку крові. Визначали загальну протеолітичну активність (ЗПА) за розщепленням казеїну при рН 7,6 за методом Кунітца в модифікації Левицького [8] і активність лужної фосфатази (ЛФ) за методом Бессея в модифікації [18].

### Результати дослідження та їх обговорення

На рис. 2 наведено результати визначення ЗПА в гомогенаті підшлункової залози щурів, які одержували стрептозоточин. У перший термін (10 днів) спостерігається більш ніж 2-разове зниження ЗПА, що, за даними А. В. Стефанова [19], обумовлено швидким вимиванням вільних протеаз із тканини підшлункової залози. Введення інуліну гальмує процес вимивання протеаз. У другий термін (25 днів) процес активації протеолізу в підшлунковій залозі повертається майже до норми, що може свідчити про затихання запального процесу, який спостерігається при введенні стрептозоточину. Використання інуліну мало впливає на рівень ЗПА.

На рис. 3 наведені результати визначення ЗПА в тканині печінки щурів, які одержували стрептозоточин. Як видно із цих даних, у I терміні (10 днів) активність протеаз у печінці, на відміну від підшлункової залози,

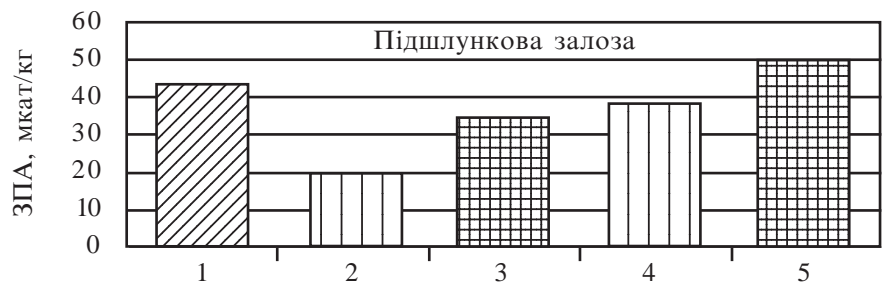


Рис. 2. Вплив інуліну на загальну протеолітичну активність підшлункової залози щурів з експериментальним цукровим діабетом

Примітка. На рис. 2-4: 1 — норма; 2, 4 — діабет, 10 і 25 днів відповідно; 3, 5 — діабет + інулін, 10 і 25 днів відповідно.

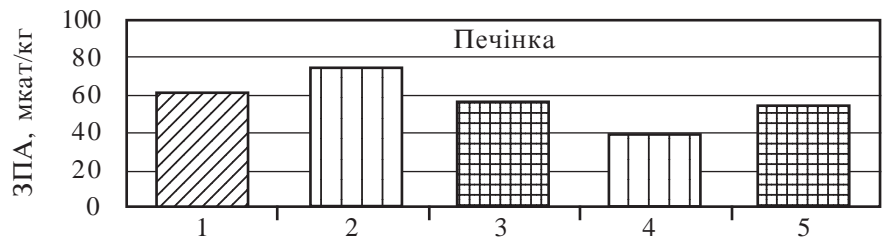


Рис. 3. Вплив інуліну на загальну протеолітичну активність печінки щурів з експериментальним цукровим діабетом

зи, зростає. Введення інуліну знижує ЗПА. У II терміні (25 днів) ЗПА печінки падає (майже в 2 рази). Інулін підвищує активність протеолізу, але все ж таки рівень його залишається нижчим порівняно з контролем.

На рис. 4 подано результати визначення активності ЛФ в печінці щурів із експериментальним діабетом. Помітна різниця рівня активності залежно від термінів хвороби: значне зниження в I терміні та суттєве збільшення в II терміні. Характер змін активності ЛФ у печінці має протилежний напрям порівняно з ЗПА: коли ЗПА в печінці зростає, активність ЛФ падає і навпаки. Можна уявити, що печінка в I терміні поглинає

вільні протеази, які елімінуються із підшлункової залози. Можливо, що у II терміні цей механізм поглинання протеаз печінкою порушується, а рівень ЗПА в печінці падає, вільні протеази легко проникають до крові ворітної вени і в загальне коло кровообігу, і це збільшує активність протеаз у сироватці.

Як видно з даних, наведених в таблиці, активність ЛФ і ЗПА в сироватці крові щурів зростає при цукровому діабеті. Застосування інуліну знижує на 10-й день ЗПА, а на 25-й день — активність ЛФ.

Враховуючи, що інсулін досить чутливий до протеолізу [1; 2], можна припустити, що в II фазі експериментального діабету

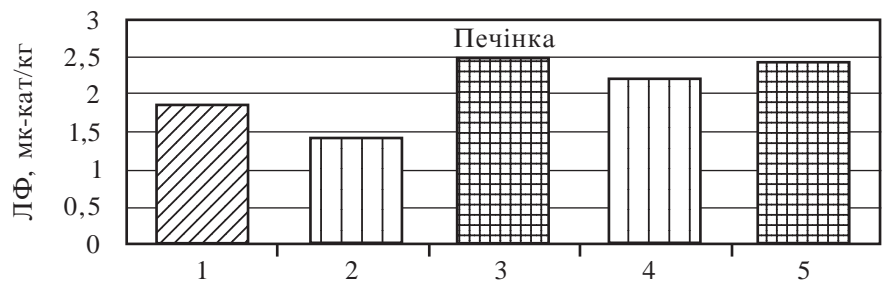


Рис. 4. Вплив інуліну на активність лужної фосфатази печінки щурів з експериментальним цукровим діабетом

**Вплив інуліну на активність протеаз  
і лужної фосфатази сироватки крові щурів  
з експериментальним цукровим діабетом**

Група	Активність ферментів	
	ЗПА, нкат/л	ЛФ, нкат/л
Норма	2,400±0,050	0,53±0,07
Діабет, 10 днів	2,99±0,30	0,75±0,10
Діабет, 10 днів + інулін	1,94±0,31 P<0,05	1,00±0,15 P>0,3
Діабет, 25 днів	13,4±1,6	0,90±0,10
Діабет, 25 днів + інулін	15,6±3,7 P>0,3	0,480±0,015 P<0,05

виникаючі ускладнення значною мірою залежать від зниження концентрації інсуліну в крові, що зумовлено підвищенням протеолізму.

### Висновки

1. Розвиток експериментального цукрового діабету характеризується значними змінами в активності протеолізу в підшлунковій залозі, печінці та сироватці крові.

2. Введення інгібіторів протеолізу хворим на цукровий діабет може бути ефективним засобом лікування.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Сологуб Л. І., Пащковська І. С., Аитоняк Г. Л. Протеази клітин та їх функції. — К.: Наук. думка, 1992. — 196 с.
2. Кудрин А. В. Металли і протеолітичні ферменти // *Вопр. біол., мед. і фармац. хімії.* — 1999. — № 3. — С. 19-24.

3. Громакова І. А., Коноваленко О. А. Лизосомальный протеолиз: влияние возраста и инсулина // *Биохимия.* — 2003. — Т. 68, вып. 7. — С. 941-945.

4. Строев Е. А., Борискина М. А. Изменение активности лизосомальных цистеиновых протеиназ в различных фракциях лейкоцитов периферической крови у больных инсулиннезависимым сахарным диабетом // *Вопросы биол., мед., фармац. химии.* — 1998. — № 2. — С. 29-32.

5. Лузиков В. Н. Контроль качества: белки и органеллы // *Биохимия.* — 2002. — Т. 67, вып. 2. — С. 205-219.

6. Цисельский Ю. В. Патологическое обоснование основных методов лечения диабетической ретинопатии и ее следствий (обзор литературы) // *Эндокринология.* — 2005. — Т. 10, № 2. — С. 224-237.

7. Шенкман Б. З. Бактериальные эндотоксины и медиаторные системы макроорганизма // *Усп. совр. биол.* — 1991. — Т. 111, вып. 3. — С. 400-415.

8. Авдеева М. Г., Шубич М. Г. Патогенетические механизмы инициации синдрома системного воспалительного ответа // *Клин. лабор. диагностика.* — 2003. — № 6. — С. 3-10.

9. Яковлев М. Ю. Элементы эндотоксической теории физиологии и патологии человека // *Физиол. человека.* — 2003. — Т. 29, № 4. — С. 98-109.

10. Левицкий А. П. Физиологическая микробная система полости рта // *Вісн. стоматології.* — 2007. — № 1. — С. 3-8.

11. Paul A. T., Gohil V. M., Bhutani K. K. Modulating TNF- $\alpha$  signaling with natural products // *Drug Discovery Today.* — 2006. — Vol. 11, N 15/16. — P. 725-732.

12. Чугунова Л. Г., Дубинина И. И. Показатели перекисного окисления липидов и активность лизосомальных ферментов у больных сахарным диабетом // *Пробл. эндокринологии.* — 2006. — № 5. — С. 9-11.

13. Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии. — К.: Здоров'я, 1988. — 200 с.

14. Gibson G. R., Roberfroid M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics // *J. of Nutrition.* — 1995. — Vol. 125. — P. 1401-1412.

15. Шевелева С. А. Пробиотики и пребиотики и пробиотические продукты. Современное состояние вопроса // *Вопросы питания.* — 1999. — № 2. — С. 32-40.

16. Inulin and oligofructose as dietary fiber: A review of the evidence / G. Flamm, W. Glinsmann, D. Kritchevsky et al. // *Crit Rev. Food Sci. and Nutr.* — 2001. — Vol. 41, N 5. — P. 353-362.

17. Левицкий А. П. Инулин — пища для бактерий, лекарство для людей. — Одесса, 2003. — 28 с.

18. Левицкий А. П. Пищеварительные ферменты слюнных желез: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Одесса, 1974. — 53 с.

19. Стефанов А. В. Получение и свойства ингибитора эластазы из подчелюстных слюнных желез собаки: Дис. ... канд. мед. наук. — Одесса, 1974. — 167 с.

UDC 616.379-008.64-[092.9]-085.357:577.175.734

А. П. Левицкий, Ю. В. Цисельский

### ВПЛИВ ІНУЛІНУ НА СТАН ПРОТЕОЛІЗУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДІАБЕТУ

У 20 білих щурів віком 6–8 міс спричинювали цукровий діабет (ЦД) введенням внутрішньочервно 40 мг/кг стрептозоточину (С). Через 10 і 25 днів після введення С досліджували активність протеаз (за розщепленням казеїну при рН 7,6) у гомогенатах печінки, підшлункової залози, а також у сироватці крові.

Двадцять інших щурів з 2-го дня після введення С одержували *per os* препарат інуліну з коренів цикорію дозою 2 г/кг. Встановлено, що розвиток ЦД на 10-й день знижує протеолітичну активність у підшлунковій залозі та збільшує у печінці. Через 25 днів активність протеази у підшлунковій залозі повертається до норми, а в печінці знижується майже в 2 рази. Введення інуліну запобігає зниженню рівня активності протеаз у підшлунковій залозі та збільшенню цієї активності в печінці.

Активність протеаз у сироватці крові щурів на 25-й день ЦД зростає майже в 6 разів. Інулін мало впливає на цю активність.

**Ключові слова:** діабет, стрептозоточин, інулін, протеоліз.

UDC 616.379-008.64-[092.9]-085.357:577.175.734

A. P. Levitskiy, Yu. V. Tsyelskiy

### THE INFLUENCE OF INULIN UPON THE STATE OF PROTEOLYSIS IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

Diabetes mellitus (DM) was caused in 20 white rats at the age of 6–8 months by the intraperitoneal introduction of 40 mg/kg of streptozotocyn (C). In 10 and 25 days after the introduction of C the activity of proteases (by caseolysis at pH 7,6) in homogenates of liver, pancreas as well as in blood serum, was studied.

Twenty other rats since the 2nd day after the introduction of C have received the preparation of inulin from chicory roots by 2 g/kg *per os*. It was determined that the development of DM reduces the proteolytic activity in pancreas and increases it in the liver. In 25 days the activity of protease normalizes in the pancreas, and almost twice decreased in the liver. The introduction of inulin prevents the decrease in level of proteases activity in pancreas and its rise in the liver.

The activity of proteases in blood serum in rats by the 25th day of DM grows almost 6 times as much. Inulin influences this activity slightly.

**Key words:** diabetes, streptozotocyn, inulin, proteolysis.