https://doi.org/10.31861/biosystems2024.02.215

УДК 616.15:577.3]:616.379 – 008.64 - 019

РОЛЬ ПІРУВАТУ В ЕНЕРГЕТИЧНОМУ ОБМІНІ ЩУРІВ З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

О.Ю. КУШНІР, О.О. КУШНІР, І.М. ЯРЕМІЙ, К.М. ЯРЕМІЙ

Буковинський державний медичний університет
Кафедра біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії
Театральна пл. 2, м. Чернівці, 58002, Україна
Email: kushnir@bsmu.edu.ua

Відомо, що піруват є проміжним продуктом, що повязує гліколіз та цикл трикарбонових кислот з подальшим утворення АТФ, крім того може бути використаний на шляху утворення незамінних амінокислот та жирних кислот. Мелатонін - гормон, широко відомий як антиоксидант та цитопротектор. Мелатонін - гормон, широко відомий як антиоксидант та цитопротектор. Як саме змінюється концентрація пірувату за умов діабету та уведення мелатоніну досі недостатньо вивчені.

Статевозрілих безпородних білих щурів розділили на групи: 1) контроль, 2) контроль+мелатонін 10 мг/кг маси тіла, 3) алоксандіабетичні щурі (алоксану моногідрат інтраперетонеально з розрахунку 170 мг/кг маси тіла), 4) алоксандіабетичні щурі, які отримували мелатонін аналогічно. Щурів забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 12 добу від початку експерименту згідно з встановленими нормами поводження з експериментальними тваринами. Дослідження рівня пірувату в плазмі крові проводили за стандартною методикою. Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Рівень глюкози та пірувату в плазмі крові діабетичних тварин зростали на 97% та 172% відповідно порівняно з показниками інтактних щурів. Уведення мелатоніну викликало зниження рівня глюкози натще на 38% та нормалізацію пірувату порівняно з інтактними тваринами. Можливо, мелатонін позитивно впливає на регуляцію експресії генів піруватдегідрогенази. Уведення мелатоніну за умов фізіологічної норми позначилося зростанням вмісту пірувату в плазмі на 23% у порівнянні з показниками інтактних тварин. Такі результати, ймовірно, свідчать про переключення енергетичних реакцій на користь аеробних процесів.

В ході дослідження нами було встановлено, що у щурів з алоксановим діабетом відбувається зростання рівня глюкози та вмісту пірувату в крові. За умов уведення меланоніну досліджувані показники знижувалися, ймовірно через покращення надходження глюкози всередину клітини та перенаправлення пірувату в бік аеробних процесів, які є більш вигідними для енергетичного забезпечення клітини.

Ключові слова: мелатонін, алоксановий діабет, щурі, піруват.

Вступ. Відомо, що піруват є проміжним продуктом, що повязує гліколіз та цикл трикарбонових кислот з подальшим утворення АТФ, крім того може бути використаний на шляху утворення незамінних амінокислот та жирних кислот. Мелатонін - гормон, широко відомий як антиоксидант та цитопротектор. Як саме змінюється концентрація пірувату за умов діабету та уведення мелатоніну досі недостатньо вивчені (Henrique Spaulonci Silveira, 2024).

Мета. З'ясувати вплив мелатоніну на рівень пірувату в плазмі крові щурів з алоксановим діабетом.

Матеріали та методи. Для експерименту відібрали 60 статевозрілих безпородних щурів самців масою 150 грамів. Тварин розділили на 4 групи: 1) контроль (інтактний), 2) контроль+мелатонін 10 мг/кг маси тіла, 3) алоксандіабетичні щурі (алоксану моногідрат інтраперетонеально з розрахунку 170 мг/кг маси тіла), 4) алоксандіабетичні щурі, які отримували мелатонін аналогічно (Kushnir O.Yu., 2017). Рівень глюкози натще визначали за допомогою прилпду One Touch Ultra Easy ("Johnson & Johnson", США). Щурів забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 12 добу від початку експерименту згідно з встановленими нормами поводження з експериментальними тваринами. Дослідження рівня пірувату в плазмі крові проводили за стандартною методикою (Chih-Kuang Chuang, 2006). Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати. В експеримент були відібрані щурі, рівень глюкози натще яких піднявся після уведення алоксану моногідрату і становив на 97% вище ніж показник інтактних тварин. Рівень

пірувату в плазмі крові теж зростав на 172% порівняно з показниками інтактних щурів.

Відомо, що інсулін є головним стимулятором засвоєння клітинами глюкози.

Дія інсуліну починається, коли інсулін зв'язується з ним спорідненим рецептором на клітинній поверхні (IR). Рецептор інсуліну є гетеродимерним трансмембранним α2β2 білоком, який володіє внутрішньою тирозинкіназною активністю. Зв'язування інсуліну з IR індукує конформаційні зміни рецептора, що призводить до аутофосфорилювання та активації рецепторних тирозинкіназ, що, у свою чергу, рекрутує і стимулює субстрати рецепторів інсуліну (IRS), в тому числі IRS1 (Mohamed Lotfya et al., 2024). Потім IRS1 зв'язується з регуляторною субодиницею фосфоінозитид-3-кінази (PI3-K) через домен гомології Src 2 (SH2), що призводить до активації PI3-K. PI3-K фосфорилює мембранні фосфоліпіди та фосфатидилінозитол 4,5-бісфосфат (PIP2) у положенні 3′. Комплекс активує 3-фосфоінозитидзалежні протеїнкінази-1 (PDK-1), що призводить до активації Akt/протеїнкіназа B (PKB) і атипових протеїнкіназ C λ і ζ (aPKC λ/ζ), кожна з яких є серин/треонін кіназами. Надмірна експресія PKCζ у м'язах in vivo (Tangvarasittichai S., 2015) посилює як базальний, так і стимульований інсуліном транспорт глюкози. Дослідження Liu et al. (Huang, X. et al., 2018) припускає, що PKCζ може сприяти транслокації GLUT4 до плазматичної мембрани шляхом ремоделювання підмембранної актинової сітки.

Шляхи, якими рання передача сигналів інсуліну (до AKT) пов'язана з трафіком везикул GLUT4, були невловимими, доки Ліенхард і його колеги не виявили два тісно пов'язаних білка, що активує Rab-GTPase (GAP): TBC1D4 (також відомий як AS160) і TBC1D1 (Sadi, G. et al. 2015). TBC1D1 і TBCID4 сприяють гідролізу гаунозин-5'трифосфату (GTP) до гаунозиндифосфату (GDP) на білках Rab і тим самим стримують транслокацію GLUT4.

Таблиця 1.

Вміст глюкози та пірувату в крові діабетичних щурів, (n=6, x±Sx)

Table 1.

Glucose and pyruvate content in the blood of diabetic rats, (n=6, x±Sx)

Показники Indexes Групи Groups	**Вміст пірувату, мкмоль/л Pyruvate content, mcmol/L**	**Вміст глюкози натще, ммоль/л Fasting glucose, mmol/L**
Інтактні щурі Intact rats	53±2,23	5,6±0,51
Контроль+ мелатонін Control+melatonin	65±3,11[a]	4,4±0,42 [a]
Діабетичні щурі Diabetic rats	144±5,43[a]	11±0,88 [a]
Діабетичні щурі+мелатонін Diabetes+melatonin	60±3,67[b]	6,8±0,42 [a,b]

Примітка: 1. а, б - зміни достовірні (p≤0,05). 2. а - щодо контролю (інтактні щури); б - щодо щурів, хворих на цукровий діабет.

Note: 1. a, b - changes are reliable (p≤0,05). 2. a - regarding control (intact rats); b - regarding rats with diabetes mellitus.

Уведення мелатоніну викликало зниження рівня глюкози натще на 38% та нормалізацію пірувату порівняно з показниками інтактних щурів. Мелатонін контролює виробництво GLUT4 та/або процес фосфорилювання рецептора інсуліну та його внутрішньоклітинних субстратів, активуючи інсуліновий сигнальний шлях через мембранні рецептори, пов'язані з G-білком (Seema Rai et al, 2024, Hui Zhu, 2023). Можливо мелатонін позитивно впливає на регуляцію експресії генів піруватдегідрогенази (Siddhi J. et al., 2022). Уведення мелатоніну за умов фізіологічної норми позначилося зростанням вмісту пірувату в плазмі на 23% у порівнянні з показниками інтактних тварин. Такі результати свідчать про переключення енергетичних реакцій на користь аеробних процесів (Kazuki Watanabe, 2023). Мелатонін захищає мітохондрії шляхом поглинання активних форм кисню (АФК), підтримує оптимальний потенціал мітохондріальної мембрани та зберігає функції мітохондрій (Dun-Xian Tan et al., 2016).

Висновок. В ході дослідження нами було встановлено, що у щурів з алоксановим діабетом відбувається зростання рівня глюкози та вмісту

пірувату в крові. За умов уведення меланоніну досліджувані показники знижувалися, ймовірно через покращення надходження глюкози всередину клітини та перенаправлення пірувату в бік аеробних процесів, які є більш вигідними для енергетичного забезпечення клітини.

Конфлікт інтересів: *під час виконання досліджень та написання статті автори не використовували комерційні або фінансові співпраці, що могли би викликати конфлікт інтересів.*

References:

1. Chih-Kuang Chuang, Tuen-Jen Wang, Chun-Yan Yeung, Wen-Shyang Hsieh, et al. (2006). Interference and blood sample preparation for a pyruvate enzymatic assay. *Clinical Biochemistry*,1 (39), 74-77.
2. Kushnir O.Yu., Yaremii I.M., Shvetsv V.I., Shvets N.V. (2017). Influence of melatonin on carbohydrate metabolism in the kidney of alloxan diabetic rats. *Fiziol. journ.*, 63(4), 64-71.
3. Kazuki Watanabe, Masaki Nakano, Masaki Nakano, Yusuke Maruyama,Yusuke Maruyama, Jun Hirayama, Jun Hirayama, Nobuo SuzukiNobuo Suzuki, Atsuhiko Hattori, Atsuhiko Hattori (2023). Nocturnal melatonin increases glucose uptake via insulin-independent action in the goldfish brain. *Front. Endocrinol. Sec. Neuroendocrine Science*. 14. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1173113
4. Henrique Spaulonci Silveira, Roberta Carvalho Cesário, Renan Aparecido Vígaro, et al. (2024) Melatonin changes energy metabolism and reduces oncogenic signaling in ovarian cancer cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 592(1), 112296. https://doi.org/10.1016/j.mce.2024.112296
5. Mohamed Lotfya, Aalaa Khattab, Mohammed Shata, Amjad Husseina, Biduth Kundua Ernest A. Adeghate (2024) Melatonin increases AKT and SOD gene and protein expressions in diabetic rats. Trends in immunology. 7(10).
6. Sadi, G. Baloğlu, M.C. Pektaş, M.B. (2015) Differential gene expression in liver tissues of streptozotocin-induced diabetic rats in response to resveratrol treatment. *PLoS One*; 10, e0124968
7. Huang, X. Liu, G. Guo, J. (2018) The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes. *Int. J. Biol. Sci.* 14, 1483
8. Tangvarasittichai, S. (2015) Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World J. Diabetes*. 6, 456
9. Siddhi, J. · Sherkhane, B. · Kalavala, A.K. (2022) Melatonin prevents diabetes-induced nephropathy by modulating the AMPK/SIRT1 axis: focus on autophagy and mitochondrial dysfunction. *Cell Biol. Int.* 46, 2142-2157.
10. Seema Rai, Gunja Roy, Younis Ahmad Hajam (2024) *Front Oncol.* 13, 1248339. https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1248339.
11. Hui Zhu, Zhi-jia Zhao, Hong-yi Liu et al. (2023) The melatonin receptor 1B gene links circadian rhythms and type 2 diabetes mellitus: an evolutionary story *Annals of Medicine* 55(1):1262-1286 https://doi.org/10.1080/07853890.2023.2191218
12. Dun-Xian Tan, Lucien C Manchester, Lilan Qin 1, Russel J Reiter (2016) Melatonin: A Mitochondrial Targeting Molecule Involving Mitochondrial Protection and Dynamics. *J Mol Sci*. 17(12):2124. https://doi.org/10.3390/ijms17122124

THE ROLE OF PYRUVATE IN ENERGY TURNOVER OF RATS WITH ALLOXAN DIABETES UNDER THE CONDITIONS OF MELATONIN INJECTIONS

Kushnir O.Yu., Kushnir O.O., Yaremii I.M., Yaremii K.M.

Bukovinian State Medical University
Department of bioorganic and biological chemistry
and clinical biochemistry, Chernivtsi, Ukraine
Email: kushnir@bsmu.edu.ua

It is known that pyruvate is an intermediate product that links glycolysis and the tricarboxylic acid cycle with the subsequent formation of ATP, and can also be used in the formation of essential amino acids and fatty acids. Melatonin is a hormone widely known as an antioxidant and cytoprotector. Melatonin is a hormone widely known as an antioxidant and cytoprotector. The way that pyruvate concentration changes under conditions of diabetes and melatonin administration is still poorly understood.

Sexually mature purebred white rats were divided into groups: 1) control, 2) control + melatonin 5 mg/kg body weight, 3) alloxandiabetic rats (alloxan monohydrate intraperitoneally at the rate of 170 mg/kg body weight), 4) alloxandiabetic rats receiving melatonin similarly Rats were killed by decapitation under light ether anesthesia on the 19th day from the beginning of the experiment in accordance with established norms for the treatment of experimental animals. The level of pyruvate in the blood plasma was measured according to the standard method. Statistical processing of the research results was carried out using the Student's t-test.

The level of glucose and pyruvate in the blood plasma of diabetiv rats increased on 97% and 172% respectively compared to the intact rats. Administration of melatonin caused a 38% decrease in fasting glucose and a normalization

of pyruvate compared to intact rats. It is possible that melatonin has a positive effect on the regulation of pyruvate dehydrogenase gene expression. The introduction of melatonin under the conditions of the physiological norm was affected by an increase in the content of pyruvate in the plasma by 23% in comparison with the indicators of intact animals. Such results indicate the switching of energy reactions in favor of aerobic processes.

It was found that in rats with alloxan diabetes, there was an increase in the level of glucose and pyruvate in the blood. Under the conditions of melanin administration, the studied indicators decreased, probably due to the improvement of glucose entry into the cell and the redirection of pyruvate towards aerobic processes, which are more beneficial for the energy supply of the cell.

Key words: melatonin, alloxan diabetes, rats, pyruvate.

Отримано редколегією 25.10.2024

ORCID ID
Олександра Кушнір: https://orcid.org/0000-0002-8011-6825
Олександра Кушнір: https://orcid.org/0009-0007-1930-4708
Ірина Яремій: https://orcid.org/0000-0001-7969-345X
Катерина Яремій: https://orcid.org/0009-0000-5120-6728