

**УДК 577.112.4:598/599**

## **ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ГОМОГЕНАТЕ НЕРВНОЙ ТКАНИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРИНСУЛИНЕМИИ**

*Никольская В. А., Лютослав И. С.*

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия  
E-mail: ladyvictoria\_nikol@mail.ru*

Данная статья отражает вопросы влияния гиперинсулинемического состояния на организм и значимость его изучения для диагностики биохимических изменений в приобретенном метаболическом нарушении. Рассмотрен показатель молекул средней массы, характеризующий уровень воздействия избыточных доз инсулина на кровь и нервную ткань лабораторных животных. Обнаружено, что экспериментальная гиперинсулинемия вызывает метаболическую перестройку в исследуемых тканях животных, приводящую к достоверному изменению уровня молекул средней массы разной степени выраженности.

**Ключевые слова:** гиперинсулинемия, молекулы средней массы, сыворотка крови, гомогенат нервной ткани.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Известно, что в зависимости от патологического состояния организма изменяется содержание молекул средней массы (МСМ), что в определенной степени является прогностическим критерием нарушения обменных процессов. МСМ является гетерогенным пулом соединений, включающим в себя различные по химической природе вещества, основную часть которых составляют олигопептиды [1]. Стрессовое воздействие искусственно вызванной гиперинсулинемии, несомненно, не могло не отразиться на столь многокомпонентной многофункциональной ткани организма, как кровь. Во многих исследованиях показано, что дисбаланс между накоплением и элиминацией продуктов протеолиза из русла крови оказывает существенное влияние на организм и обнаруживается при различного вида патологических отклонениях [2] или стрессе пролонгированного действия [3].

В связи с этим целью данной работы явилось исследование влияния гиперинсулинемии на процесс образования МСМ в сыворотке крови и нервной ткани лабораторных крыс.

Обусловленность выбора объекта изучения, а именно нервной ткани, вызвана, прежде всего, значительным уровнем сопряжения ее функционирования с изменениями в крови, а также высокой специфичностью процессов, протекающих в данной ткани [4, 5]. Поскольку наблюдается прямая выраженная зависимость

состояния нервной ткани от кровотока [6], то представляло несомненный интерес проведение анализа изменений показателя молекул средней массы в зависимости от длительности воздействия экспериментальной гиперинсулинемии в динамике.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась на базе биохимической лаборатории кафедры биохимии Таврической академии Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского.

Материалом для исследования служили сыворотка крови и гомогенат нервной ткани. Лабораторные крысы были разделены на следующие группы: контрольная (интактная) группа, группа №1 – лабораторные животные, подверженные однократному воздействию инсулинового шока (1 раз в сутки, 1 сутки); группа № 2 – лабораторные крысы, подверженные двукратному воздействию инсулинового шока (1 раз в сутки, 2 суток; группа № 3 – лабораторные крысы, подверженные трехкратному воздействию инсулинового шока (1 раз в сутки, 3 суток). Крысам опытных групп подкожно вводили по 3,5 ед. инсулина. Наличие развития гипогликемической комы определяли появлением судорог, для купирования комы вводили внутривенно по 3,5 мл 20 % раствора глюкозы.

Уровень молекул средней массы определяли по методу Н. И. Габриэлян и др. [7].

Статистическая обработка полученных данных проведена с применением методов вариационной статистики с вычислением средних величин ( $M$ ), стандартного отклонения ( $m$ ), оценкой достоверности изменений с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. За достоверную принималась разность средних значений при  $p < 0,05$  [8].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования уровня МСМ в сыворотке крови лабораторных крыс (рис. 1).

Анализируя результаты, можно отметить, что в сыворотке крови лабораторных крыс группы № 1 при воздействии гиперинсулинемии уровень МСМ в отличие от интактной группы достоверно понижается в 2 раза при всех длинах волн регистрации.

В сыворотке крови лабораторных животных группы № 2 содержание МСМ достоверно ниже по сравнению с интактной группой в 3 раза при длинах волн регистрации  $\lambda=275$  нм и  $\lambda=280$  нм, а при  $\lambda=254$  нм – в 2 раза.

На третьи сутки при воздействии на организм лабораторных крыс искусственно вызванной гиперинсулинемии уровень молекул средней массы в сыворотке крови достоверно повышается по сравнению с показателем опытной группы № 2 при всех длинах волн регистрации.

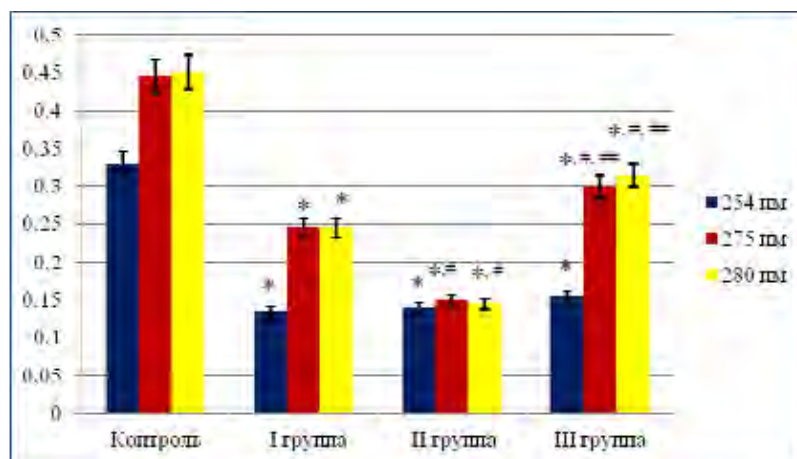


Рис. 1. Уровень молекул средней массы в сыворотке крови лабораторных крыс (е. о. п.) при воздействии гиперинсулиемии.

*Примечание:* \* – достоверность различий показателя по сравнению с интактной группой при  $p \leq 0,05$ ; # – достоверность различий показателя по сравнению с I опытной группой при  $p \leq 0,05$ ; ## – достоверность различий показателя по сравнению с II опытной группой при  $p \leq 0,05$ .

Результаты исследования содержания молекул средней массы в нервной ткани лабораторных крыс (рис. 2).

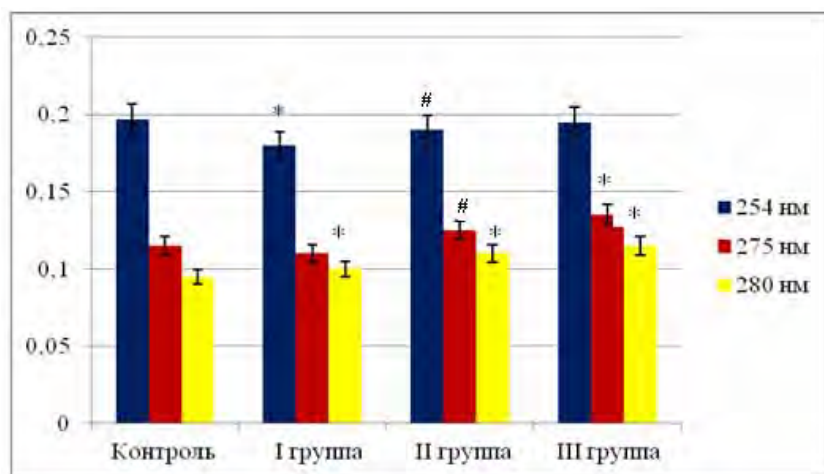


Рис. 2. Уровень содержания молекул средней массы в гомогенате нервной ткани лабораторных крыс (е. о. п.).

*Примечание:* \* – достоверность различий показателя по сравнению с интактной группой при  $p \leq 0,05$ ; # – достоверность различий показателя по сравнению с I опытной группой при  $p \leq 0,05$ .

Показано, что уровень МСМ в гомогенате нервной ткани лабораторных крыс опытной группы № 1 претерпевает изменения в сторону снижения (при  $\lambda=254$  нм и  $\lambda=275$  нм регистрации) по сравнению с интактной группой как достоверного характера, так и на уровне тенденции.

При повторном воздействии экспериментальной гиперинсулинемии на организм лабораторных животных выявлено достоверное повышение уровня МСМ в гомогенате нервной ткани опытной группы № 2 по сравнению с опытной группой № 1. Следует отметить, что при длинах волн регистрации  $\lambda=275$  нм  $\lambda=280$  нм данный показатель в гомогенате нервной ткани лабораторных животных группы № 2 превышает уровень интактной группы (при этом для  $\lambda=280$  нм данная разница достигает достоверного уровня).

Из представленных данных следует, что содержание МСМ в гомогенате нервной ткани лабораторных животных опытной группы № 3 при длинах волн регистрации  $\lambda=275$  нм,  $\lambda=280$  нм достоверно повысилось на 15–17 % по сравнению с показателем интактной группы.

Воздействие экспериментальной гиперинсулинемии, обладающей стрессовым характером, приводит к определенному рода закономерным перестройкам в организме в качестве ответной реакции, возможно, и с привлечением данного рода соединений в обменные процессы с дальнейшей их трансформацией в различных метаболических звеньях [9]. Об этом свидетельствует снижение содержания МСМ в сыворотке крови лабораторных животных 1-й и 2-й опытных групп по сравнению с интактной.

Обращает на себя внимание и вызывает несомненный интерес изменение уровня МСМ в сыворотке крови лабораторных животных, подверженных экспериментальной гиперинсулинемии на третьи сутки эксперимента, что приводит к их увеличению в данной ткани. Анализируя литературные данные, можно предположить, что подобного рода повышение уровня МСМ в сыворотке крови, возможно, связано с восстановлением пула веществ, часть из которых, в представлении многочисленных авторов [10–13] обладает свойствами биорегуляторов [14], что вписывается в расширяющуюся концепцию о биорегуляторной роли МСМ в организме.

Анализируя изменения уровня МСМ в нервной ткани у лабораторных животных, подвергнутых экспериментальной гиперинсулинемии, можно предположить, что они связаны с их замедленной элиминацией, что также не исключает возможность проявления резистентности данной ткани к подобного рода воздействию [15, 16].

В целом, гиперинсулинемия как в крови, так и в нервной ткани приводит к достоверному (в отмеченном ранее ряде случаев) снижению уровня МСМ. При этом если в сыворотке крови снижение развивается в течение 1 и 2 воздействий и только между 2 и 3 начинается компенсация, то в нервной ткани компенсация наступает после 1-го.

Поскольку организм в принципе стремится компенсировать стрессорное воздействие гиперинсулинемии, то снижение уровня МСМ закономерно позволяет

указать, во-первых, на их участие в этой компенсации в целом, а, во-вторых, на расходный характер такого участия.

Вышеуказанное позволяет выдвинуть следующую гипотезу. Часть МСМ могут служить источником осмотически активных олигопептидов, колебания уровня которых компенсируют изменения осмотического давления крови, возникающие вследствие активного захвата глюкозы.

С этой точки зрения снижение уровня МСМ должно отражать работу механизма контроля осмотического давления крови [17]. Видимое приближение их содержания к показателю контрольной группы в течение опыта может быть объяснено как компенсаторное повышение уровня МСМ длительно стрессированным организмом в ожидании очередного инсулинового шока, то есть так называемая «опережающая» (предварительная) компенсация.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлено достоверное понижение уровня МСМ в сыворотке крови лабораторных крыс опытных в среднем на 50 % по сравнению с показателем интактной группы.
2. Показано достоверное повышение показателя МСМ лабораторных животных опытной группы № 1 в среднем на 6 % в гомогенате нервной ткани по сравнению с контрольной группой животных. Установлено достоверное понижение уровня МСМ лабораторных животных опытных групп № 2, 3 в среднем на 10 % в сравнении как с интактной группой, так и с опытной группой № 1 лабораторных животных.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Работа выполнена на оборудовании ЦКП ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» «Экспериментальная физиология и биофизика».*

### Список литературы

1. Никольская В. А. Биохимический аспект рассмотрения молекул средней массы в организме / В. А. Никольская, Ю. Д. Данильченко, З. Н. Меметова // Таврический медико-биологический вестник – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С. 139–145.
2. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клин. лаб. диаг. – 2004. – Вып. 3. – С. 4–8.
3. Зенков Н. К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньшикова – М.: МАИК, 2001. – 343 с.
4. Глухов М. М. Физиология человека в схемах и таблицах: Учебное пособие / М. М. Глухов, О. А. Козлитин, В. А. Шапошников и др. – СПб.: Лань, 2016. – 608 с.
5. Любимова З. В. Возрастная анатомия и физиология в 2 т. т.1 организм человека, его регуляторные и интегративные системы: Учебник для СПО / З. В. Любимова, А. А. Никитина. – Люберцы: Юрайт, 2016. – 447 с.
6. Grimsrud P. A. Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes / P. A. Grimsrud, H. Xie, T. J. Griffin, D. A. Bernlohr // The Journal of Biological Chemistry. – 2008. – 283 – P. 21837–21841.

7. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях. Метод. рекомендации / Н. И. Габриэлян, Э. Р. Левицкий, А. А. Дмитриев [и др.] – М., 1985. – 18 с.
8. Янцев А. В. Выбор статистических критериев / А. В. Янцев // учеб. пособие по биометрии для студентов биологов. – Симферополь, 2012. – 138 с.
9. Никольская В. А. Гиперинсулинемия, влияние на метаболические процессы в организме / В. А. Никольская, Н. А. Постольник, З. Н. Меметова // Международный научно-исследовательский журнал, серия «Биология. Химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С. 139–145.
10. Davies K. J. Protein damage and degradation by oxygen radicals / K. J. Davies, and M. E. Delsignore // III. Modification of secondary and tertiary structure. J. Biol. Chem. – 1987 – 262. – P. 9908-9913.
11. Лобанов С. А. Особенности процессов окислительной модификации белков и содержание молекул средней массы при длительной гиподинамии / С. А. Лобанов, Н. С. Черепанов, И. Х. Султанов // Вестник Челябинского государственного педагогического университета. – 2011. – № 5. – С. 373–382.
12. Промыслов В. Ш. Роль липидов фракции средних молекул в характеристике патологического процесса / В. Ш. Промыслов, Л. И. Левченко, М. Л. Демчук [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1989. – Вып. 4. – С. 105–107.
13. Шитов А. Ю. Молекулы средней массы как показатель «гипербарической интоксикации» у водолазов / А. Ю. Шитов // Альманах клинической медицины. – 2013. – № 28. – С. 48–52.
14. Walters D. M. Oxidative Stress and Antioxidants in the Pathogenesis of Pulmonary Fibrosis: A Potential Role for Nrf2 / D. M. Walters, H. Y. Cho, S. R. Kleebarger // Antioxidants & redox signaling. – 2008. – 10 (2). – P. 321–32.
15. Андреева Ю. В. Гиперинсулинемия и инсулиновая резистентность / Ю. В. Андреева // Вестник новых медицинских технологий – 2012 – Т. 19, № 2 – С. 61.
16. Гаврилов В. Б. Определение тирозин- и триптофансодержащих пептидов в плазме крови по поглощению в УФ-области спектра / В. Б. Гаврилов, Н. Ф. Лобко, С. В. Конев // Клин. лаб. диагн. – 2004. – Вып. 3. – С. 12–16.
17. Соколовский В. В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие / В. В. Соколовский // Вопр. мед. химии. – 1988. – № 34 (6). – С. 2–11.

**CHANGES IN THE LEVEL OF THE MIDDLE WEIGHT MOLECULES IN THE BLOOD SERUM AND HOMOGENATE OF THE NERVOUS TISSUE OF LABORATORY ANIMALS WITH EXPERIMENTAL HYPERINSULINEMIA IMPACT**

*Nikolskaja V. A., Ljutoslav I. S.*

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia  
E-mail: ladyvictoria\_nikol@mail.ru*

This article reflects the influence of hyperinsulinemic state on the body and the importance of its studying in diagnosing of biochemical changes in the acquired metabolic disorder. The indicator of average mass molecules characterizing the level of exposure of excessive doses of insulin to the blood and nervous tissue of laboratory animals is analyzed. It was found that experimental hyperinsulinemia causes a metabolic rearrangement in the animal tissues studied, which leads to a significant change in the level of molecules of the average mass of different degrees.

The study used the following biological material: blood serum and a homogenate of nerve tissue. Laboratory animals were distributed four groups: control (intact) group; group 1 – laboratory animals exposed to a single exposure to insulin shock (1 time per

day, 1 day); group 2 – laboratory rats exposed to twice exposure to insulin shock (1 time per day, 2 days); group 3 – laboratory rats exposed to triple exposure to insulin shock (1 time per day, 3 days).

The rats of test groups were injected subcutaneously with 3,5 units of insulin. The presence of development of hypoglycemic coma was determined by the appearance of convulsions, for cupping the coma, 3.5 ml of a 20 % solution of glucose were injected intraperitoneally.

In the experiment, there was a decrease of MWM concentration in the blood serum of laboratory animals of the 1st and 2nd experimental groups in strains with intact. It probably associated with the stressful nature of hyperinsulinemia and compensates for changes in the body by involving this kind of compounds in metabolic processes with their further transformation in various metabolic units.

On the third day of the experiment, an increase in average weight molecules in this tissue of laboratory animals was detected. Based on data from literature sources, one of the hypotheses of a registered change can be put forward as follows: this kind of increase in the level of average mass molecules in blood serum is possibly associated with the restoration of the pool of substances, some of which, in the view of numerous authors, have the properties of bioregulators that fit in. In the expanding concept of the bioregulatory role of MWM in the body.

Analysis of the effect of experimental hyperinsulinemia on the organism of laboratory animals leads to a change in the level of MWM in the nervous tissue. Nevertheless, it is shown that this tissue shows greater resistance to this kind of action, in comparison with blood serum.

In general, hyperinsulinemia, both in the blood and in the nervous tissue, leads to a significant (in a previously noted number of cases) reduction in the level of MWM. In this case, if in the blood serum the decline develops within 1 and 2 exposures, and only between 2 and 3, compensation begins, then in the neural tissue, compensation occurs after the 1st.

Since the body in principle seeks to compensate for the stressful effects of hyperinsulinemia, the reduction in the level of MWM naturally allows one to point out that, first, their participation in this compensation as a whole, and secondly, the expense nature of such participation.

The foregoing allows us to propose the following hypothesis. A portion of MWM can serve as a source of osmotically active oligopeptides whose level fluctuations compensate for changes in osmotic blood pressure resulting from active glucose uptake.

From this point of view, a decrease in the level of MWM should reflect the work of the osmotic blood pressure monitoring mechanism. The apparent approximation of their content to the control group during the experiment can be explained as a compensatory increase in the level of MWM by a long-strained organism in anticipation of another insulin shock, that is, the so-called "anticipatory" (preliminary) compensation.

**Keywords:** hyperinsulinemia, middle-weight molecules (MWM), blood serum, nerve tissue homogenate.

### References

1. Nikolskaya V., Danilchenko U., Memetova Z. Biochemical aspects of the consideration of the role of high molecular mass in the body, *Scientific Notes of Taurida V. I. Vernadsky National University, Series: Biology, chemistry*, **26 (65)**, **1**, 139 (2013).
2. Karyakina E. V., Belova S. V. Average Weight Molecules as an Integral Marker of Metabolic Disorder, *Clin. Laborat. Diagn.*, **3**, 4 (2004).
3. Zenkov N. K., Lankin V. Z., Menshchikova E. B. *Oxidative Stress: biochemical and pathophysiological Aspects*, 343 (M.: MAIK, 2001).
4. Gluhov M. M., Kozlitin O. A., Shaposhnikov V. A. i dr. *Fiziologija cheloveka v shemah i tablicah: Uchebnoe posobie*, 608 (SPb.: Lan', 2016).
5. Ljubimova Z. V., Nikitina A. A. *Vozrastnaja anatomija i fiziologija v 2 t. t.1 organizm cheloveka, ego reguljatornye i integrativnye sistemy: Uchebnik dlja SPO*, 447 (Ljubercy: Jurajt, 2016).
6. Grimsrud P. A., Xie H., Griffin T. J., Bernlohr D. A. Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes, *The Journal of Biological Chemistry*, **283**, 21837 (2008).
7. Gabrielyan N. I., Levitsky E. R., Dmitriev A. A. [et al.], *Screening Method for Average Molecules Determination in Biological Liquids: Methodological Recommendations*, 18 (M., 1985).
8. Jancev A. V. *Vybor statisticheskikh kriteriev, ucheb. posobie po biometrii dlja studentov biologov. – Simferopol'*, 138 (2012)
9. Nikolskaya V., Danilchenko U., Memetova Z. Biochemical aspects of the consideration of the role of high molecular mass in the body, *Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry*, **26 (65)**, **1**, 139 (2013).
10. Davies K. J., Delsignore M. E. Protein damage and degradation by oxygen radicals, III. Modification of secondary and tertiary structure, *J. Biol. Chem.*, **262**, 9908 (1987).
11. Lobanov S. A., Cherepanov N. S., Sultanov I. K. Peculiarities of Protein Oxidative Modification Processes and Average Weight Molecules Content Under Long-Term Hypodynamia, *Herald of Chelyabinsk State Pedagogical University*, **5**, 373 (2011).
12. Promyslov V. Sh., Levchenko L. I., Demchuk M. L. [et al.] The Lipids Role of Average Molecules Fraction in a Pathologic Process Characteristics, *Questions of Medical Chemistry*, **4**, 105 (1989).
13. Shitov A. Yu. Molecules of middle mass as an indicator of divers' «Hyperbaric intoxication», *Al'manah kliniceskoj mediciny*, **28**, 48 (2013).
14. Walters D. M., Cho H. Y., Kleeberger S. R. Oxidative Stress and Antioxidants in the Pathogenesis of Pulmonary Fibrosis: A Potential Role for Nrf2, *Antioxidants & redox signaling*, **10 (2)**, 321 (2008).
15. Andreeva Yu. V. Hyperinsulinemia and insulin resistance, *Journal of New Technologies*, **19**, **2**, 61 (2012).
16. Gavrilov V. B., Lobko N. F., Konev S. V. Determination of Tyrosine and Tryptophan-Containing Peptides in the Blood Plasm by the Absorbtion of Ultraviolet Spectrum, *Clin. Laborat. Diagn.*, **3**, 12 (2004).
17. Sokolovsky V. V. Thiolic antioxidants in molecular mechanisms of non-specific response of the body on extreme effect, *Voprosy meditsinskoj khimii*, **34 (6)**, 2 (1988).