

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ

ВЕСТНИК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

BULLETIN

BIOLOGY SERIES

2/2(64) 2015

ISSN 1563-0218
Индекс 75866; 25866

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ҚазҰУ ХАБАРШЫСЫ

Биология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

ВЕСТНИК КазНУ

Серия биологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

KazNU BULLETIN

Biology series

№2/2 (64)

Алматы
«Қазақ университеті»
2015

Аскарова З.А.,
Манкибаева С.А.,
Атанбаева Г.К., Абдрешов С.Н.,
Балхыбекова А.О., Ахметова А.,
Косман Г., Кабылбек К.,
Асембаева Ж.

**Биохимические показатели
лимфы и плазмы крови у крыс
при экспериментальном
сахарном диабете**

Askarova Z.A., Mankibaeva S.A.,
Atanbaeva G.K., Abdreshov S.N.,
Balchybekova A.O.,
Akhmetova A., Kosman G.,
Kabylbek K., Asembaeva Zh.

**Biochemical indices of lymph
and blood plasma of rats at
alloxan diabetes**

Аскарова З.А.,
Манкибаева С.А.,
Атанбаева Г.К., Абдрешов С.Н.,
Балхыбекова А.О., Ахметова А.,
Косман Г., Кабылбек К.,
Асембаева Ж.

**Егеуқұйрықтардың қант
диабеті кезіндегі лимфа мен
қан плазмасының
биохимиялық көрсеткіштері**

Получена модель аллоксановый диабет у крыс, которая подтвердилась гистологическими и биохимическими данными. В данной статье показано, что при аллоксановом диабете у крыс наблюдалось снижение лимфотока из грудного лимфатического протока. На этом фоне обнаружены повышение скорости свертывания крови и лимфы, их вязкости, сдвиг pH лимфы и крови в кислую сторону, увеличение гематокрита, с возрастанием числа эритроцитов и тромбоцитов в крови. Показаны сдвиги биохимического состава и реологических показателей лимфы и плазмы крови и снижение содержание инсулина и повышение концентрации глюкозы, что доказывали в получении модели экспериментального диабета с инсулиновой недостаточностью 1-го типа. Наблюдались нарушения не только углеводного обмена в лимфе, но и белкового и накопление в лимфе конечных продуктов азотистого обмена.

Ключевые слова: аллоксан, глюкоза, инсулин, лимфа, плазма крови.

Under the alloxan diabetic in rats that was confirmed by histological and biochemical data. This article shows that in alloxan diabetic rats there was a decrease of the thoracic lymph duct. On this background increase of speed of a fibrillation and a lymph, their viscosity, shift pH a lymph and blood in the sour party, increase hematocrit, with number increase erythrocytes and thrombocytes in blood are found out. Shows the shift of the biochemical composition and rheology of lymph and blood plasma and reduced insulin and elevated blood glucose, which is proved in getting the model of experimental diabetes with insulin deficiency type 1. Infringements not only a carbohydrate exchange in a lymph, but also albuminous and accumulation in a lymph of end-products of a nitrogenous exchange were observed.

Key words: alloxan, glucose, глюкоза, insulin, lymph, blood plasma.

Егеуқұйрықтарда аллоксанды диабет үлгісі алынды, әрі гистологиялық және биохимиялық көрсеткіштері бойынша дәлелденді. Бұл мақалада, аллоксан диабеті кезінде егеуқұйрықтарда кеуде лимфа арнасынан лимфа ағысының төмендеуі байқалатындығы көрсетілген. Бұл кезеңде қан мен лимфаның үю жылдамдығының артқандығы, сонымен бірге олардың тұтқырлығының артқандығы, қан мен лимфада pH көрсеткішінің қышқылдық жағына өзгергені, гематокрит көрсеткішінің артқандығы, сондай-ақ қанда эритроциттер мен тромбоциттер санының артқандығы байқалады. Лимфа мен қан плазмасының биохимиялық құрамы мен реологиялық көрсеткіштерінде өзгерістер болатындығы және инсулин мөлшерінің төмендеуі және глюкоза концентрациясының артуы, өз кезегінде 1-типтегі инсулин жетіспеушілік эксперименталды диабет үлгісі алынғандығын дәлелдейді. Зерттеу барысында лимфада көмірсу алмасуының бұзылуы емес, сонымен бірге лимфада белоктық және азоттық алмасудың соңғы өнімдерінің жиналуы байқалды.

Түйін сөздер: аллоксан, глюкоза, инсулин, лимфа, қан плазмасы.

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби,
Республика Казахстан, г. Алматы

²Институт физиологии человека и животных КН МОН РК,
Республика Казахстан, г. Алматы

³АО «Медицинский университет Астана», Республика Казахстан, г. Астана
*E-mail: Atanbaeva.gulshat@kaznu.kz

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИМФЫ И ПЛАЗМЫ КРОВИ У КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

В настоящее время сахарный диабет стал сложной проблемой для здравоохранения всего мира, так как затрагивает все сферы жизнедеятельности человека. Согласно оценкам экспертов ВОЗ, сахарный диабет по своей масштабности и опасности занимает второе место после сердечно-сосудистых заболеваний, количество больных диабетом возрастает до 360 млн. человека в 2030 году. При этом распространенность диабета среди всех возрастных групп увеличивается с 2,8% до 4,4% [1, 2, 3]. С увеличением частоты заболеваемости в мире возрастает социальная значимость сахарного диабета, так как он вызывает тяжелые осложнения и приводит к потере трудоспособности и инвалидности [3, 4, 5].

При этом, лимфатическая система является одной из самых активных, но уязвимых систем при любом физиологическом состоянии и ее роль в развитии ряда патологических процессов вызывает определенный интерес. Особенно, вызывает интерес возможность её участия при развитии сахарного диабета. Однако в доступной литературе мы не встретили сведений о биохимических сдвигах в лимфе при сахарном диабете.

В связи с этим, представляет интерес изучить функциональное состояние лимфатической системы и биохимические показатели лимфы и плазмы крови при аллоксановом диабете.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на 35 белых взрослых беспородных крысах массой тела 220 – 350 гр., из них были созданы две группы. Первая группа животных – контрольная (15 крыс), вторая-группа (20 крыс) в условиях *in vivo* однократно подкожно вводили препарат аллоксана в дозе 15мг/100г массы тела. В течение 15 дней в этой группы животных развивался сахарный диабет. У крыс регистрировали и получали лимфу из кишечного лимфатического сосуда с помощью градуированной микроканюли. Кровь для анализа получали из брюшной артерии. Содержание глюкозы в крови, лимфе и моче определяли на глюкометре «Глюкотренд-2» с использованием тест-полосок, инсулина в плазме крови и лимфе – иммунорадиометрическим методом. Аспаратаминотрансферазы (АСТ) и алани-

наминотрансферазы (АЛТ) определяли методом Райтмана-Френкеля, билирубин определяли методом Иендрашика-Гофа, тимоловую пробу – с тимолово-вероналовым буфером, общий белок определяли биуретовым методом, мочевины унифицированным методом по цветной реакции с диацетилмонооксимом, креатинин – по цветной реакции Яффе с пикриновой кислотой с помощью клинико-диагностических «Bio-Lachema-Test» (Чехия) [6]. Определяли физико-химические показатели крови и лимфы свертываемость по Сухареву, а вязкость с помощью вискозиметра ВК-4.

Результаты опытов обработаны методом вариационной статистики на ЭВМ с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования выявили, через 15 дней после введения аллоксана содержание глюкозы в крови повышалось до $16,45 \pm 4,20$, в лимфе до $17,51 \pm 4,63$ ммоль/л. В моче отмечалась глюкозурия ($3,87 \pm 1,32$ ммоль/л и появление кетоновых тел). В норме у интактных крыс содержание глюкозы в крови было до $4,97$ ммоль/л, в лимфе до $6,26$ ммоль/л, в моче – глюкоза отсут-

ствует (рисунок 1).

Содержание инсулина в плазме крови снижалось до $0,9 \pm 0,1$ мкМЕ/мл, в лимфе до $0,3 \pm 0,1$ мкМЕ/мл по сравнению с контрольной группой (контрольная группа в крови $20,50 \pm 2,25$ мкМЕ/мл, в лимфе $5,00 \pm 1,20$ мкМЕ/мл) (рисунок 2). Известно, что инсулин обладает гипогликемическим действием. Таким образом, наши результаты позволяют заключить, что нами была получена модель стрептозотоцинового диабета с инсулиновой недостаточностью 1-го типа.

Согласно нашим экспериментальным данным, при аллоксановом диабете у крыс, наряду с выраженной гипергликемией и глюкозурией, наблюдалось повышение уровня глюкозы в лимфе кишечного лимфатического протока. Причем, содержание глюкозы в лимфе всегда было несколько выше, чем в крови как у интактных крыс, так и у крыс с аллоксановым диабетом. Динамика повышения уровня глюкозы в лимфе развивалась параллельно с уровнем гипергликемией. Однако, нами не обнаружена корреляция между уровнем гипергликемии и глюкозурии у крыс. На отсутствие корреляционной связи между уровнями гипергликемии и глюкозурии при аллоксановом диабете у крыс ранее указывали и другие исследователи [7, 8].

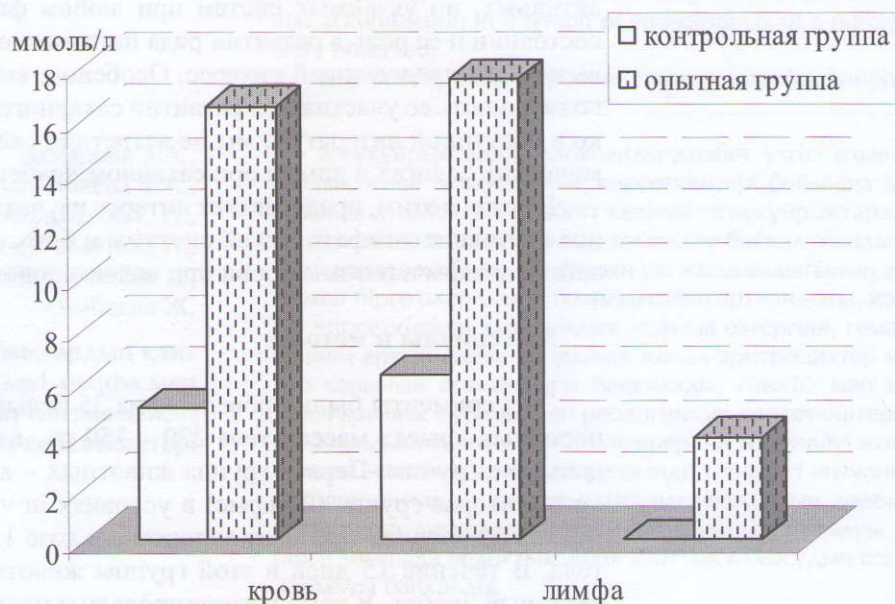


Рисунок 1 – Содержание глюкозы в крови, лимфе и моче у крыс со аллоксановым диабетом

После получения сахарного диабета у опытной группы крыс вязкость лимфы и плазмы крови повышались: на 64% и 51% соответственно по сравнению с контрольной группы (в лимфе 4,8 и в крови 4,1). Время свертывания лимфы и крови при сахарном диабете изменялось в сторону укорочения времени на 22% и 10% (в контрольной группе в лимфе 3,8 и в крови 3,2 сек). Полученные данные свидетельствуют о глубоких изменениях в крови и в лимфе при экспериментальном сахарном диабете. Лимфоток у крыс со аллоксановым диабетом значительно снижался и составил в среднем $3,38 \pm 1,15$ мкл/мин/100г.м.т. у крыс с экспериментальным диабетом, тогда как у интактных животных лимфоток из грудного протока был равен $13,27 \pm 3,11$ мкл/мин/100г.м.т. У крыс с диабетом содержание общего белка в плазме крови снижалось до $56,0 \pm 0,21$, в лимфе до $31,8 \pm 0,35$ г/л, что выразилось в процентах в плазме крови на 30-35%, в лимфе на 35-40% по сравнению с интактными крысами. Эта связано с нарушением функции гепатоцитов при сахарном диабете, и эта способствует уменьшению процессов лимфообразования и снижению лимфотока из грудного протока у животных.

В наших экспериментах значительное увеличение аминотрансфераз, главным образом повысилась активность АЛТ на 245% и составила $0,82 \pm 0,12$ мкат/л, эта указывает на нарушение

функции печени. Известно, что фермент АЛТ специфичен для печени и поджелудочной железы, т.е. локализован внутри клеток этих органов и при наличии деструктивных процессов в этих органах и тканях и появляется в плазме крови, где соответствующая ферментативная активность резко возрастает. Таким образом, увеличение АЛТ также указывает на наличие в гепатоцитах и поджелудочной железе патологического процесса. Активность фермента АСТ увеличилась по сравнению с интактными крысами на 66% и составила $0,45 \pm 0,15$ мкат/л. АСТ специфичен для сердечной и сосудистой системы и увеличение активности АСТ свидетельствует о сосудистых нарушениях (таблица 1).

Известно, что важным показателем белкового обмена, имеющим клиническое значение является билирубин, продукт распада гемоглобина. В контрольной группе у крыс билирубин колеблется от 0,10 до 1,67 мкмоль/л. Содержание билирубина в крови крыс с диабетом повышалось до $2,50 \pm 0,30$ мкмоль/л. В проведенных нами экспериментах выявлено увеличение концентрации мочевины до $13,11 \pm 2,05$ ммоль/л и креатинина до $81,25 \pm 5,10$ мкмоль/л в плазме крови у экспериментальных крыс, что на 30-40% выше по сравнению с интактными животными, и что, скорее всего, связано с нарушением функции почек.

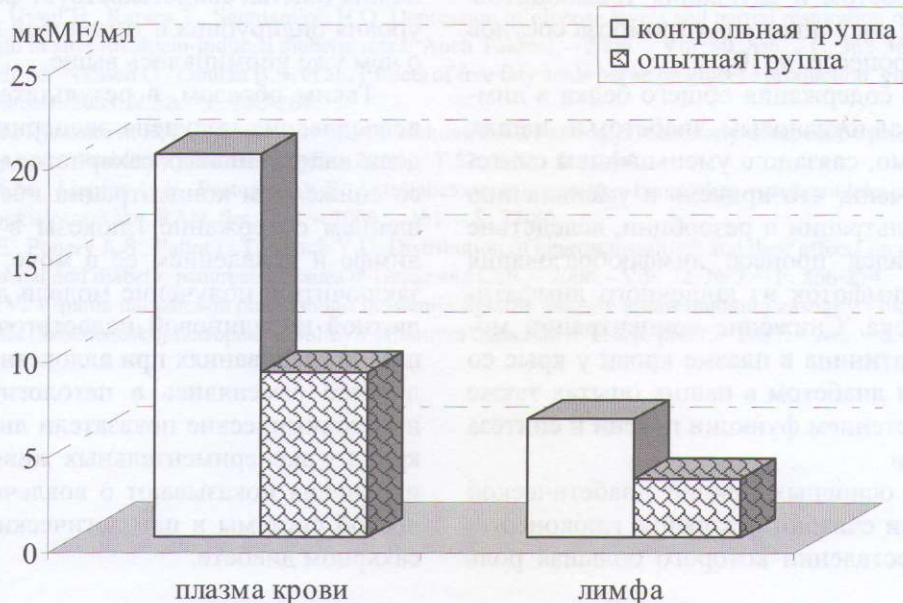


Рисунок 2 – Содержание инсулина в плазме крови и лимфе у крыс в норме и со аллоксановым диабетом

Таблица 1 – Биохимические показатели плазмы крови и лимфы у крыс с аллоксановым диабетом

Наименование	1-я контрольная группа	2-я группа с диабетом
Лимфа		
Общий белок, г/л	39,2 ± 0,29	31,8 ± 0,35*
Плазма крови		
Общий белок, г/л	68,2 ± 0,43	56,0 ± 0,21
АЛТ, мкат/л	0,12 ± 0,25	0,82 ± 0,12*
АСТ, мкат/л	0,13 ± 0,12	0,45 ± 0,15*
Билирубин общий, мкмоль/л	0,17 ± 0,25	2,50 ± 0,30**
Мочевина, ммоль/л	4,62 ± 0,45	13,11 ± 2,05**
Креатинин, мкмоль/л	43,82 ± 3,08	81,25 ± 5,10**

Примечание: достоверно по сравнению с контролем при – P < 0,05*; – P < 0,01**

В экспериментах было отмечено, что у крыс с сахарным диабетом наблюдалось снижение процессов лимфообразования и лимфотока из грудного лимфатического протока, примерно на 70% по сравнению с интактными животными, это связано со снижением транскапиллярного обмена и процессов лимфообразования, о чем свидетельствуют биохимические показатели лимфы и плазмы крови. Из полученных данных видно, что при сахарном диабете у крыс увеличивалась вязкость, и ускорялось время свертывания крови и лимфы, что ухудшает реологические свойства лимфы. В литературе описаны подавление функции противосвертывающей системы у больных сахарным диабетом и активация тромбоцитов, что повышает риск появления тромбоза сосудов при данном процессе [9, 10].

Снижение содержания общего белка в лимфе у крыс с аллоксановым диабетом в наших опытах, видимо, связано с уменьшением синтеза белка в печени, что привело к уменьшению процессов фильтрации и резорбции, вследствие чего уменьшался процесс лимфообразования и снижался лимфоток из кишечного лимфатического протока. Снижение концентрации мочевины и креатинина в плазме крови у крыс со аллоксановым диабетом в наших опытах также связано с угнетением функции печени и синтеза белка в печени.

Одной из основных причин диабетической гипергликемии считают ускорение глюконеогенеза, в осуществлении которого большая роль

принадлежит ферментам [11, 12]. Нами установлено повышение активности в 3-7 раза от контрольного уровня первых ферментных звеньев глюконеогенеза: АСТ и АЛТ. Повышение содержания АЛТ и АСТ в плазме крови свидетельствует об усилении активности цитолитических процессов у крыс со аллоксановым диабетом. Возможно, установленное нами повышение активности АСТ и АЛТ в плазме крови при аллоксановом диабете обусловлено, с одной стороны, усилением глюконеогенеза, а с другой, нарушением функциональной и структурной целостности клеток паренхимы печени. О нарушении функции печени у крыс с сахарным диабетом в наших опытах свидетельствует факт увеличения уровня билирубина и тимоловой пробы в крови, о чем уже упоминалось выше.

Таким образом, в результате проведенного исследования получена экспериментальная модель аллоксанового сахарного диабета у крыс со снижением концентрации инсулина и повышением содержания глюкозы в плазме крови, лимфе и появлением её в моче, что позволяет заключить о получении модели диабета с абсолютной инсулиновой недостаточностью. В наших исследованиях при аллоксановом сахарном диабете изменялись в патологическую сторону биохимические показатели лимфы и плазмы крови у экспериментальных животных. Все эти изменения показывают о вовлечении лимфатической системы в патологический процесс при сахарном диабете.

Литература

- 1 Балаболкин М.И. Диабетология. – Москва, 2000. – 672 с.
- 2 Тронько Н. Актуальные проблемы диабетологии на современном этапе в Украине // Сахарный диабет: все об эффективном и экономически обоснованном лечении. – 2011, – Ч. 1. – №24, – С.104-108.
- 3 Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. – 2011. – V. 414. – P.813-820.
- 4 Дедов И.И., Балаболкин М.И. Инсулиновая резистентность в патогенезе сахарного диабета типа 2 и медикаментозная возможность ее преодоления // Журнал «Врач». – 2006. – №11. – С.3.
- 5 Stitt A.W., Ceurtis T.M. Advanced glycation and retinal pathology during diabetes // Pharmacol. Rep. – 2005. – Vol. 57. – P.156-168.
- 6 Камышников В.С, Колб В.Г. Клиническая биохимия. – Москва. – 2000. – Т. I-II. – 480 с.
- 7 Kanter M., Uysal H., Karaca T., Saqmanliqit H.O. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic β -cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats // Arch Toxicol. – 2006. – Vol. 80, №6. – С. 362-369.
- 8 Staehr P., Holter-Nielsen O., Landau B.R. et al., Effects of free fatty acids per se on glucose production, gluconeogenesis and glycogenolysis // Diabet. 2003. V.52. – P. 260-267.
- 9 Кравец Е.Б., Рязанцева Н.В., Яковлева Н.М., Чудакова О.М. Патология мембраны тромбоцитов при сосудистых осложнениях диабета 1-го типа // Проблемы эндокринологии. – 2006. – Т.52, №6. – С. 10-14.
- 10 Ульянов А.М., Ляпина Л.А., Пасторова В.Е. Антидиабетогенные свойства комплекса высокомолекулярного гепарина с аденозинтрифосфорной кислотой // Изв. РАН. Сер. биол. – 2006. – №1. – С. 77-80.
- 11 Adeghate E., Ponery A.S., Pallot D.Y., Singh Y.U. Distribution of neurotransmitters and their effects on glucagon secretion from the in vitro normal and diabetic pancreatic tissues // Tissue and Cell. – 2000. –Vol. 32, № 3. – P. 266-274.
- 12 Гранина О.В. Влияние нарушения перекисного окисления липидов, системы антиоксидантной защиты и биоэлементного баланса на формирование диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом // Врач. практ. – 2007. – №2. – С. 46-50.

References

- 1 Balabolkin M.I. Diabetologija. – Moskva, 2000. – 672 s.
- 2 Tron'ko N. Aktual'nye problemy diabetologii na sovremennom etape v Ukraine // Saharnyj diabet: vse ob jeffektivnom i ekonomicheski obosnovannom lechenii. – 2011, – Ch. 1. – №24, – S.104-108.
- 3 Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. – 2011. – V. 414. – P.813-820.
- 4 Dedov I.I., Balabolkin M.I. Insulinovaja rezistentnost' v patogeneze saharnogo diabeta tipa 2 i medikamntoznaja vozmozhnost' ee preodolenija // Zhurnal «Vrach». – 2006. – №11. – S.3.
- 5 Stitt A.W., Ceurtis T.M. Advanced glycation and retinal pathology during diabetes // Pharmacol. Rep. – 2005. – Vol. 57. – P.156-168.
- 6 Kamyshnikov V.S, Kolb V.G. Klinicheskaja biohimija. – Moskva. – 2000. – Т. I-II. – 480 s.
- 7 Kanter M., Uysal H., Karaca T., Saqmanliqit H.O. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic β -cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats // Arch Toxicol. – 2006. – Vol. 80, №6. – С. 362-369.
- 8 Staehr P., Holter-Nielsen O., Landau B.R. et al., Effects of free fatty acids per se on glucose production, gluconeogenesis and glycogenolysis // Diabet. 2003. V.52. – P. 260-267.
- 9 Kravec E.B., Rjazanceva N.V., Jakovleva N.M., Chudakova O.M. Patologija membrany trombocitov pri sosudistyh oslozhenijah diabeta 1-go tipa // Problemy jendokrinologii. – 2006. – Т.52, №6. – С. 10-14.
- 10 Ul'janov A.M., Ljapina L.A., Pastorova V.E. Antidiabetogennye svojstva kompleksa vysokomolekuljarnogo geparina s adenozintrifosfornoj kislotoj // Izv. RAN. Ser. biol. – 2006. – №1. – S. 77-80.
- 11 Adeghate E., Ponery A.S., Pallot D.Y., Singh Y.U. Distribution of neurotransmitters and their effects on glucagon secretion from the in vitro normal and diabetic pancreatic tissues // Tissue and Cell. – 2000. –Vol. 32, № 3. – P. 266-274.
- 12 Granina O.V. Vlijanie narushenija perekisnogo okislenija lipidov, sistemy antioksidantnoj zashhity i bioelementnogo balansa na formirovanie diabeticheskoy nefropatii u bol'nyh saharnym diabetom // Vrach. prakt. – 2007. – №2. – S. 46-50.