

А.А. Шупрович, Н.М. Гуріна, О.В. Корпачева-Зінич

## Порушення обміну сечової кислоти у щурів з експериментальним інсулінорезистентним синдромом, індукованим фруктозою

*Останнім часом вживання харчової фруктози розглядають як один з чинників, які сприяють розвитку ожиріння, інсулінорезистентного синдрому (ІРС) і пов'язаних з ним порушень обміну речовин. Використання 10%-го розчину фруктози з питною водою протягом 8 тиж викликало у щурів стан, який відповідає головним ознакам ІРС: інсулінорезистентність, порушення вуглеводного обміну, збільшення маси тіла, гіпертригліцеридемія, гіперурикемія. У самців усі ознаки ІРС більш виражені, ніж у самиць. Лише у самців зафіксовано підвищення добової екскреції сечової кислоти (СК), що свідчить про її гіперпродукцію. За таких умов експерименту у тварин не спостерігалось порушення ниркової фільтрації, проте відзначено зниження кліренсу СК внаслідок збільшення ниркової реабсорбції уратів відносно креатиніну. На це вказує значне зменшення індексу елімінації уратів, очевидно, викликане гіпоурикозуричним ефектом інсуліну, але не пов'язане зі змінами концентрації тестостерону. Вперше визначено, що під впливом фруктозної дієти у гомогенатах печінки дослідних тварин збільшується активність ферментів катаболізму пуринів – 5'-нуклеотидази і аденозиндезамінази, які каталізують ранні стадії розпаду пуринових нуклеотидів. Активність ферменту реутилізації пуринів гіпоксантин-гуанін-фосфорибозил-трансферази у тварин підвищувалася, що може мати компенсаторне значення за умов посиленого розпаду пуринів.*

*Ключові слова: сечова кислота, інсулінорезистентний синдром, фруктозна дієта, щури, ферменти деградації пуринів.*

### ВСТУП

Поширення у сучасному світі ожиріння, інсулінорезистентного синдрому (ІРС) та цукрового діабету (ЦД) 2-го типу все частіше пов'язують з деякими дієтичними компонентами, наприклад, із вживанням фруктози (зокрема у складі сахарози) [17, 25]. У численних клінічних, популяційних та експериментальних дослідженнях виявлено, що використання фруктози, на відміну від інших цукрів, призводить до підвищення маси тіла, розвитку інсулінорезистентності (ІР), порушення вуглеводного та пуринового обміну, а також прояву інших ознак ІРС [8, 12, 18].

Відомо, що фруктоза має специфічні властивості, які відрізняють її від глюкози та можуть бути потенційною причиною

виникнення патологічного метаболічного профілю, асоційованого з підвищенням кількості жиру в організмі та розвитком інших ознак ІРС.

Суттєвою особливістю метаболізму фруктози є здатність підвищувати в сироватці крові концентрацію сечової кислоти (СК) – метаболіта пуринів, який незалежно асоціюється з ІРС. Гіперурикемія часто супроводжує ІРС та ІР, а підвищення рівня урикемії, за деякими даними, передують розвитку ожиріння та гіпертензії [19, 32]. Крім того, велика кількість фруктози може зменшувати ниркову екскрецію СК через посилення продукції лактату – конкурентного інгібітора активного транспорту СК у процесі клубочкової фільтрації та реабсорбції [15].

© А.А. Шупрович, Н.М. Гуріна, О.В. Корпачева-Зінич

Гіпотетичним механізмом підвищення продукції СК після введення фруктози вважають підвищення внутрішньоклітинної концентрації АДФ і АМФ і зниження АТФ внаслідок активного фосфорилування фруктози. Утворення необхідного субстрату для біосинтезу пуринів *de novo* – фосфорибозилпірофосфату (ФРПФ) інгібується гетерогенним пулом 5'-нуклеотидів (АМФ і ГМФ). Зниження сумарної концентрації останніх у цитозолі активує ключові ферменти процесу новоутворення пуринів (синтетази ФРПФ і фосфорибозиламіну). Інший важливий шлях синтезу пуринів – реутилізація пуринових нуклеозидів і основ з продуктів часткової деградації нуклеїнових кислот (шлях зберігання – salvage pathway). Ключовим ферментом цього шляху є гіпоксантингуанінфосфорибозилтрансфераза (ГГФРТ), а лімітуючим попередником – ФРПФ. Фермент ГГФРТ попереджає незворотне перетворення гіпоксантину, гуаніну та аденіну на СК. Зниження активності ГГФРТ може викликати, з одного боку, збільшення розпаду пуринів з утворенням кінцевого продукту – СК, а з іншого боку – компенсаторне посилення утворення пуринів *de novo*.

Гіперпродукція СК спостерігається при ІРС та ЦД 2-го типу, проявляючись високою екскрецією СК з сечею [2]. Підвищення концентрації СК у крові викликає компенсаторне збільшення екскреції уратів нирками (нерідко в 2–3 рази і більше), але одночасно збільшує ризик ураження нирок внаслідок перевищення порогу розчинності та створення умов для кристалізації уратів. Деякі автори вважають, що розвиток гіперурикемії є наслідком втрати нирками здатності збільшувати виведення СК внаслідок їх уратного ушкодження [3].

Вважають, що гіперурикемія при ІРС є наслідком підвищеного вмісту інсуліну, який відомий як стимулятор ренальної реабсорбції СК [9]. Це підтверджується даними про зниження вмісту СК при застосуванні

інсуліносенситайзерів (тіазолідиндионів), які викликають зниження ІР та інсулінемії у хворих на ЦД [22]. З іншого боку, показано, що зниження рівнів урикемії у людей за допомогою інгібіторів ксантиноксидази (алопуринол) або урикозуричних засобів (бензбромарон) поліпшує інсуліночутливість, а також впливає на інші риси ІРС, зокрема знижує артеріальний тиск, ожиріння, гіпертригліцеридемію [15].

Всі ці дані обґрунтовують новітню концепцію, висунуту Nakagawa і співавт., Xiang і співавт. про можливість патогенетичної ролі СК у розвитку ІР і ІРС [15, 25].

Численні спостереження свідчать про те, що на ефекти фруктози та СК суттєво впливають статеві гормони, що зумовлює статеву різницю у розвитку метаболічних порушень, властивих ІРС. Показано, що у осіб чоловічої статі (у людей і тварин) підвищений ризик проявів ІРС та ССЗ, а особи жіночої статі є більш захищеними від цих наслідків [20, 23].

Виявлено, що тестостерон стимулює експресію у ниркових каналцях мишей і щурів мембранних транспортерів СК, таких, як урат-транспортер-1 та транспортери органічних аніонів, тому самці мають більшу реабсорбцію СК у нирках, ніж самиці [19]. Епідеміологічні дослідження показали, що дієтична фруктоза порушує ліпідний профіль у чоловіків, але не в жінок [6]. А в серії праць на тваринах показані статеві розбіжності впливу фруктозної дієти на вміст інсуліну в плазмі крові та периферичну інсуліночутливість, яка порушувалася лише у самців щурів [10].

Для вивчення механізмів порушення обміну речовин, пов'язаних з ІРС, нині широко використовується моделювання цього стану у гризунів (щурів, мишей, хом'ячків) введенням до їх раціону фруктози, що викликає ІР, порушення глюкозотолерантності, гіпертензію, дисліпідемію, гіперурикемію та інші характерні для ІРС порушення [7, 11]. Але механізми, які

зумовлюють статеву різницю у взаємодії метаболізму фруктози, ліпідів, вуглеводів і СК, залишаються поки що не до кінця розкритими.

Метою нашої роботи було вивчення в експерименті на щурах статевих особливостей та механізмів порушення обміну СК залежно від забезпеченості тестостероном на моделі інсулінорезистентного синдрому, індукованого введенням до раціону тварин фруктози.

## МЕТОДИКА

Експериментальне дослідження проведено на 47 щурах (23 самця і 24 самиці). Тварини знаходилися на раціоні віварію. Щури дослідної групи (15 самців і 16 самиць), яким моделювали ІРС, отримували 10%-й розчин фруктози з питною водою протягом 8 тиж [26]. Вважають, що застосування 10%-го розчину фруктози, на відміну від класичної високофруктозної дієти (60–70 % фруктози за калорійністю), ближче відповідає картині ІРС у людей та є достатнім для прояву основних метаболічних порушень у експериментальних тварин, а їх прояви не такі важкі. Щури контрольної групи (8 самців і 8 самиць) пили звичайну воду.

Кров для дослідження у тварин брали після 12-годинного голодування з ретробульбарного венозного синусу під легким ефірним наркозом. У всіх щурів до початку дослідження та після нього визначали масу тіла та проводили навантажувальні тести. Оральний глюкозотолерантний тест (оГТТ) проводили за звичайною методикою [1] внутрішньошлунковим введенням 40%-го розчину глюкози (120 мг глюкози на 100 г маси тіла) з визначенням концентрації глюкози в крові глюкозооксидазним методом, до та через 15, 30, 60 і 120 хв після її введення. Інсуліновий тест (ІТ) проводили наступної доби за допомогою внутрішньоочеревинного введення інсуліну швидкої дії

“Хумодар 100” з розрахунку 0,1 мкОд на 100 г маси тіла. Рівень глікемії визначали до та через 30 хв після ін'єкції інсуліну. Результат тесту виражали як відсоток зниження вмісту глюкози в крові відносно вихідного рівня [1]. У сироватці крові, взятої натще, та в сечі тварин, зібраній протягом доби, визначали концентрацію СК (з використанням фосфорно-вольфрамового реактиву) та креатиніну (КР, пікратним методом) за допомогою наборів «Філісіт-Діагностика» (Дніпропетровськ, Україна). Обчислювали добову екскрецію і кліренс СК і КР за вмістом речовин у сироватці крові та в сечі. Індекс елімінації уратів (ІЕУ) розраховували як відношення кліренсів СК і креатиніну та виражали у відсотках. Ця величина характеризує ступінь реабсорбції СК відносно КР, який не підлягає реабсорбції у ниркових канальцях. Про активність ферменту реутилізації пуринів гіпоксантингуанілфосфорибозилтрансферази (ГГФРТ) судили за відношенням концентрацій СК і КР у сечі [4]. Концентрацію тригліцеридів у сироватці крові визначали ферментативним методом за допомогою набору реагентів «Sentinel» (Італія).

Тварин декапітували з використанням ефірного наркозу. Печінку видаляли, перфузували холодним фізіологічним розчином і готували при охолодженні на льоду 20 % гомогенати, в яких визначали активність ферментів: 5'-НК [21] та аденозиндезамінази (АДА) [5]. Активність 5'-НК визначали за кількістю неорганічного фосфору, який вивільнився при гідролізі субстрату (АМФ) при інкубації з гомогенатом досліджуваної тканини протягом 1 год при 37° С. Вміст фосфору у пробах визначали за методом Lowry і Lopez [4], оптичну густину досліджуваних розчинів та стандартного розчину вимірювали на фотометрі КФК-3 при довжині хвилі 720 нм. Активність ферменту виражали в мікрограмах фосфору за 1 год на 1 мг білка. Активність АДА

визначали за кількістю аміаку, що виділився при дезамінуванні субстрату (аденозину) після інкубації з гомогенатом тканини протягом 15 хв при 37° С. Вміст аміаку визначали фенол-гіпохлоритним методом з використанням калібрувального графіка; оптичну густину забарвлених розчинів вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 630 нм. Активність АДА виражали в мікромолях NH<sub>3</sub> за 1 хв на 1 мг білка. Вміст білка в гомогенатах печінки визначали за допомогою методу Lowry [4].

Концентрацію тестостерону в сироватці крові щурів вивчали імунорадіометричним методом за допомогою наборів «Testosteron direct, Immunotech» (Чехія). Вимірювання радіоактивності проб проводили на γ-лічильнику «Beckman» (Німеччина). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартного пакету аналізу «Excell» з використанням критерію t Стьюдента. Різницю показників та коефіцієнт кореляції вважали достовірними при P<0,05.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За час експерименту (8 тиж) у тварин як дослідних, так і контрольних груп достовірно збільшувалася маса тіла. У самців дослідної групи – з 185,66±3,58 до 284,67 г ± 7,47 г, у самиць – з 192,19±2,54 до 221,19 г ± 3,12 г. У контрольній групі самців маса зросла з 175,62±3,83 до 235,62 г ± 4,57 г, у самиць – з 178,75±3,50 до 203,12 г ± 2,30 г. Обчислення середньої різниці вихідних та кінцевих показників для кожної тварини (Δ) показало, що приріст маси більш виразний у самців дослідної групи, ніж контрольної (Δ = 99,0±4,97 та 60,0 г ± 5,26 г відповідно, P < 0,05), тобто при вживанні фруктози спостерігається додатковий приріст маси. У самиць немає достовірної різниці між зміною маси тіла в дослідній та контрольній групах (Δ становить 30,0±2,28 і 21,37 г ± 4,748 г у дослідній і контрольній групі відповідно, P>0,05).

Як відомо, розвиток ІР і порушення обміну глюкози є важливими характеристиками ІРС. Для оцінки цих показників використали навантажувальні тести: оГТТ та ІТ, які дають змогу виявити порушення толерантності до глюкози та зміну чутливості організму до інсуліну.

Результати показали, що після 8 тиж вживання 10%-го розчину фруктози з питною водою у всіх щурів дослідних груп достовірно підвищувався рівень глікемії натще, хоча у жодному разі глікемія не сягала рівнів, характерних для ЦД (6,1 ммоль/л). У самців дослідної групи концентрація глюкози підвищилася з 4,23±0,10 до 5,70 ммоль/л ± 0,12 ммоль/л (P<0,001), у самиць – з 4,57±0,09 до 4,95 ммоль/л ± 0,09 ммоль/л (P<0,01), водночас у тварин контрольних груп не спостерігалось достовірних змін глікемії натще (у самців 4,40±0,18 щодо 3,98 ммоль/л ± 0,12 ммоль/л; у самиць 4,31±0,16 щодо 4,11 ммоль/л ± 0,12 ммоль/л, P>0,05). При цьому у самців Δ = -0,47 ммоль/л ± 0,08 ммоль/л, а у самиць Δ = 0,20 ммоль/л ± 0,06 ммоль/л (P<0,001), що вказує на більш виразне порушення обміну глюкози у самців, яке відображає підвищену продукцію глюкози печінкою.

Форма глікемічних кривих (рис. 1) при проведенні оГТТ у тварин дослідних груп набула “діабетичного” характеру: у порівнянні з вихідними результатами, у самців спостерігається зсув кривої вгору та вправо, у самиць – вправо (але не вгору) з максимумом на 30-й хвилині. На 120-й хвилині як у самців, так і у самиць рівень глікемії не повернувся до вихідного значення, як це було в контрольних групах, відображуючи уповільнення елімінації глюкози з крові або зниження глюкозотолерантності.

Результати інсулінового тесту (рис. 2) свідчать про те, що у тварин дослідних груп знизилася чутливість до інсуліну. У самців до початку дослідження концентрація глюкози в крові через 30 хв після введення інсуліну знизилася на 71,44 % ± 1,01 %; через 8 тиж

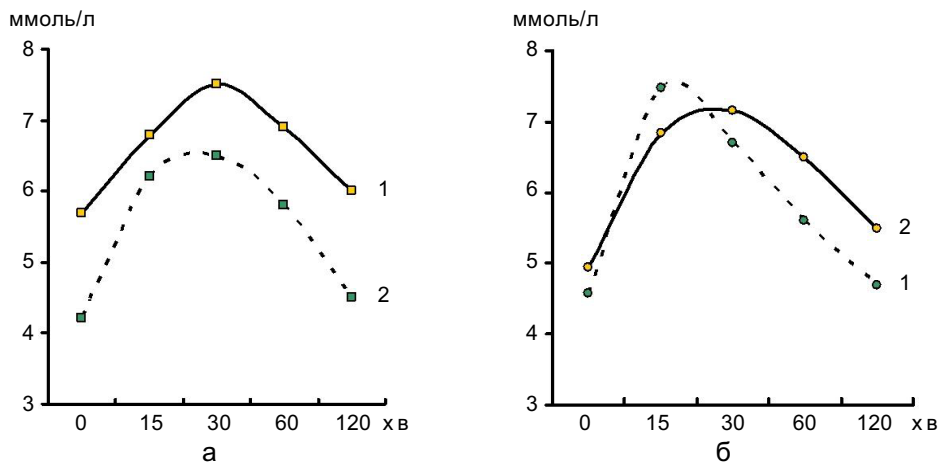


Рис. 1. Глікемічні криві, отримані при проведенні орального глюкозотолерантного тесту у самців (а) та самиць (б) щурів: 1 – вихідні значення, 2 – через 8 тиж вживання 10%-го розчину фруктози

вживання фруктози введення інсуліну призвело до зниження глікемії лише на 58,39 % ± 1,05 %. У самиць результати інсулінового тесту такі: до початку дослідження рівень глікемії знизився на 70,76 % ± 1,80 %, а через 8 тиж – на 61,75 % ± 1,24 % (P<0,05). У тварин контрольної групи відсоток зниження вмісту глюкози до та після дослідження не змінився (P>0,05).

За даними літератури, високофруктозна дієта, за відсутності надлишку ліпідів, не викликає ожиріння, але фруктоза відома як сильний стимулятор ліпогенезу. Гіпертригліцеридемія при ІРС є наслідком збільшення синтезу тригліцеридів з вільних

жирних кислот і може бути стимулятором глюконеогенезу [15]. Слід відмітити, що концентрація ТГ у сироватці крові щурів (рис. 3) після вживання фруктози достовірно підвищилася як у самців (з 0,41±0,02 до 0,53 ммоль/л ± 0,02 ммоль/л, P<0,001), так і у самиць (з 0,35±0,02 до 0,42 ммоль/л ± 0,02 ммоль/л, P<0,01). Вихідні значення концентрації ТГ у самиць нижчі, ніж у самців, а підвищення цього показника більше виражене у самців дослідної групи ( $\Delta = -0,12$  ммоль/л ± 0,01 ммоль/л) ніж у самиць ( $\Delta = -0,07$  ммоль/л ± 0,01 ммоль/л, P<0,05). У тварин контрольних груп не виявлено зміни концентрації ТГ (P>0,05).

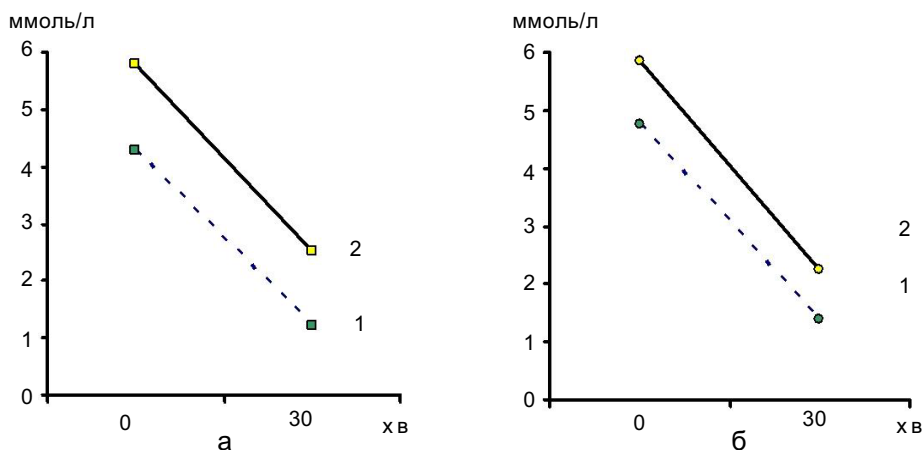


Рис. 2. Результати інсулінового тесту (вміст глюкози в крові до та через 30 хв після внутрішньоочеревинного введення інсуліну у самців (а) та самиць (б) щурів: 1 – вихідні значення, 2 – через 8 тиж вживання 10%-го розчину фруктози

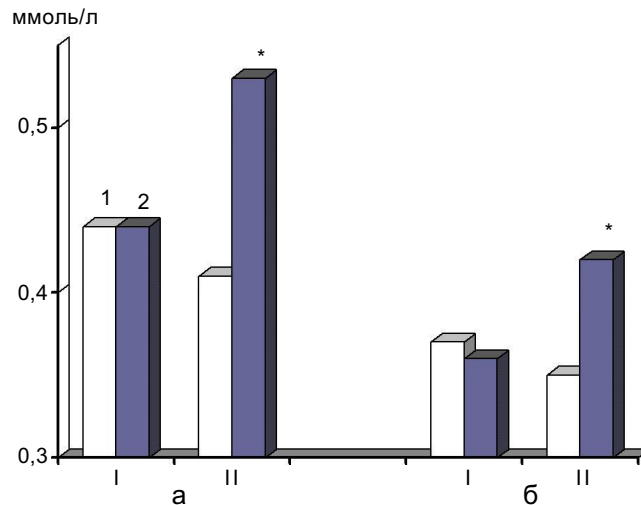


Рис. 3. Концентрація тригліцеридів у сироватці крові самців (а) і самиць (б) щурів контрольної (I) та дослідної (II) груп: 1 – вихідні значення, 2 – через 8 тиж вживання 10%-го розчину фруктози.

\* достовірність різниці між початковими та кінцевими показниками

Отримані результати свідчать про розвиток ІР, підвищення печінкового утворення глюкози та порушення толерантності до неї у тварин під впливом фруктозної дієти, причому у самців ступінь усіх цих зрушень більший, ніж у самиць. Це узгоджується з даними літератури про те, що самиці щурів більше захищені від індукованих фруктозою змін метаболізму та кров'яного тиску [10]. Фруктозна дієта викликала у щурів порушення чутливості до інсуліну, зміни вуглеводного і ліпідного обміну (підвищення вмісту ТГ), тобто отримана експериментальна модель відповідає типовим ознакам ІРС.

Проведення аналізу комплексу показників, що характеризують стан обміну СК (див. таблицю), показало суттєве підвищення її концентрації у сироватці крові тварин дослідних груп: у самців з  $116,68 \pm 8,86$  до  $187,44$  мкмоль/л  $\pm 2,93$  мкмоль/л ( $P < 0,001$ ), у самиць – з  $81,83 \pm 4,40$  до  $128,46$  мкмоль/л  $\pm 5,28$  мкмоль/л ( $P < 0,001$ ). Водночас у тварин контрольної групи не спостерігалось достовірних змін рівнів урикемії (у самців  $141,76 \pm 4,97$  щодо  $150,29$  ммоль/л  $\pm 7,92$  ммоль/л, у самиць  $84,78 \pm 2,45$  щодо  $92,90$  мкмоль/л  $\pm 2,84$  мкмоль/л,  $P > 0,05$ ).

Відомо, що індукований високофрук-

тозною дієтою ІРС характеризується порушеннями структури та функції нирок [13, 22]. Ураження нирок посилюється при високих концентраціях СК у крові та сечі, тому зниження ниркової функції може супроводжувати ознаки ІРС у тварин. Крім того, велика кількість харчової фруктози може зменшувати ниркову екскрецію СК через посилення продукції лактату [15]. Нами виявлено суттєве зниження у дослідних групах тварин кліренсу СК, а також ІЕУ – характеристики ступеня реабсорбції СК відносно КР, який не підлягає реабсорбції у ниркових каналцях. Зниження ІЕУ відповідає посиленню повернення СК з первинного ниркового фільтрату до крові, що може спричинити гіперурикемію. Якщо до початку дослідження зафіксовано середні значення ІЕУ  $20,41 \% \pm 1,57 \%$  у самців та  $27,05 \% \pm 1,20 \%$  у самиць, то через 8 тиж прийому фруктози ці значення суттєво знизилися та становили  $12,56 \pm 1,60$  та  $15,46 \% \pm 1,68 \%$  відповідно ( $P < 0,001$ ).

На процеси реабсорбції СК можуть чинити прямий вплив такі гормони, як інсулін та тестостерон [11, 25, 31, 39]. Після фруктозної дієти нами не виявлено достовірних змін концентрації загального тестостерону в сироватці крові тварин у порівнянні

Показники обміну сечової кислоти, ниркової функції та концентрації загального тестостерону в сироватці крові щурів з експериментальним інсулінорезистентним синдромом, індукованим фруктозою (M±m)

Показники	Самці				Самиці			
	дослід (n=15)		контроль (n=8)		дослід (n=16)		контроль (n=8)	
	Вихідні значення	Через 8 тиж	Вихідні значення	Через 8 тиж	Вихідні значення	Через 8 тиж	Вихідні значення	Через 8 тиж
Сечова кислота, мкмоль/л	116,7±8,9	187,4±2,9*	141,8±5,0	150,3±8,0	81,83±4,40	128,5±5,3*	84,8±2,5	92,9±2,8
Креатинін, мкмоль/л	84,3±1,3	97,5±3,1*	89,0±2,1	89,5±2,0	79,7±2,5	99,7±2,3*	72,4±4,8	82,5±3,0
Екскреція сечової кислоти, ммоль/добу	20,12±1,32	24,14±1,2*	27,59±3,33	24,49±2,38	15,10±0,69	14,4±0,9*	13,36±1,9	11,81±1,46
Кліренс сечової кислоти, мл/хв	0,12±0,01	0,08±0,01*	0,13±0,01	0,12±0,01	0,15±0,02	0,07±0,01*	0,11±0,01	0,08±0,01
Кліренс креатиніну, мл/хв	0,61±0,03	0,73±0,05	0,70±0,05	0,70±0,05	0,50±0,03	0,43±0,02	0,47±0,06	0,38±0,02
Індекс елімінації уратів, %	20,41±1,57	12,6±1,6*	18,96±1,09	16,67±0,89	27,05±1,20	15,5±1,7*	25,15±2,0	21,38±2,18
Активність гіпоксантину-анінфосфорибозилтрансферази, од.	0,28±0,01	0,21±0,01*	0,28±0,02	0,27±0,02	0,36±0,02	0,21±0,02*	0,31±0,03	0,26±0,03
Загальний тестостерон, нмоль/л	2,33±0,31	2,55±0,40	2,57±0,74	2,46±0,67	0,13±0,02	0,13±0,02	0,13±0,04	0,13±0,02

\* P&lt;0,05 порівняно з вихідними значеннями.

з вихідним значенням гормону ( $P>0,05$ ). Немає також помітної кореляції між вмістом тестостерону, СК у сироватці крові та її екскреції. Отже, у цій моделі ІРС зниження кліренсу СК та ІЕУ не пов'язано зі змінами вмісту тестостерону, що узгоджується з даними Galipeau та Vasudevan [12, 38]. Зважаючи на те, що у дослідних тварин спостерігалась ІР, а також враховуючи дані літератури про розвиток гіперінсулінемії у тварин, які отримують високофруктозну дієту [12, 38], ми маємо підстави припустити, що посилення реабсорбції СК викликано антиурикозуричною дією підвищеного вмісту інсуліну.

З літератури відомо, що до зростання рівня урикемії при споживанні фруктози можуть вносити свою частку метаболічні причини, а саме посилення процесів синтезу в організмі пуринів та їх перетворення на СК, а також зниження реутилізації пуринів, зумовлене недостатністю активності ферменту ГГФРТ [4, 13, 15, 17]. Активність цього ферменту оцінюють за відношенням концентрацій СК і КР у сечі. Зниження виділення СК на одиницю маси КР розглядають як ознаку дефіциту активності ГГФРТ. У людей (в перерахунку на молярні концентрації) нормальні значення цього показника становлять 0,19 – 0,51 ммоль СК на 1 ммоль КР [4].

У щурів з експериментальною гіперурикемією нами виявлено помітне зниження ГГФРТ: у самців з  $0,28 \pm 0,01$  до  $0,21$  од.  $\pm 0,01$  од.; у самиць з  $0,36 \pm 0,02$  до  $0,21$  од.  $\pm 0,02$  од. ( $P<0,001$ ). Це свідчить про посилення процесу реутилізації, що можна розглядати як компенсаторну реакцію на збільшення катаболізму пуринів в організмі для запобігання зниженню пулу необхідних організмові пуринових нуклеотидів. Оскільки відомий прямий взаємозв'язок зниження активності ГГФРТ та активації синтезу пуринів *de novo* [31], можна припустити, що при цій моделі ІРС важливішим чинником посилення новоутворення пуринів є стимуляція фруктозою синтезу попередників

пуринів. Це відрізняє ІРС у щурів від стану, виявленого нами у чоловіків, хворих на ЦД 2-го типу, у яких спостерігалось суттєве зниження активності реутилізації пуринів за цим показником.

Подальший шлях перетворення надлишку пуринів у СК залежить від активності ферментів, які їх катаболізують (АДА, 5'-НК, ксантинооксидази). Показано, що дорослі самці щурів мають вищу активність ксантинооксидази, а також більшу, ніж у самиць, експресію генів транспортерів уратів, завдяки чому у самців підтримується більш високий вміст СК в крові. Як показано в експериментах з кастрацією тварин і введенням статевих гормонів, процеси синтезу нуклеотидів, активність ксантинооксидази та експресія урат-транспортерів знаходяться під впливом тестостерону, а естрогени чинять супресивну дію на активність ксантинооксидази в печінці та стимулюють ниркову екскрецію СК [17, 28].

Але в літературі немає даних щодо впливу високофруктозної дієти на активність ферментів, які беруть участь у деградації пуринів. Проведене нами визначення активності ферментів 5'-НК та АДА в гомогенатах печінки щурів показало, що обидва ферменти проявляють підвищену

активність у тварин після прийому фруктози в порівнянні з показниками в контрольній групі (рис. 4). Як у самиць, так і в самців виявлені зміни статистично достовірні ( $P < 0,01$ ).

Отримані результати вказують на те, що високофруктозна дієта (у вигляді 10%-го розчину фруктози з питною водою) у самців і самиць щурів посилює деградацію пуринових нуклеотидів на ранніх стадіях: гідролітичне відщеплення фосфату від АМФ (5'-НК) та подальше дезамінування аденозину з утворенням інозину та ксантину (АДА). Ці сполуки є субстратами ферменту ксантинооксидази, продуктом дії якого є СК. Діяльність ксантинооксидази супроводжується утворенням активних радикалів кисню, а активність ферменту стимулюється при накопиченні АМФ (що утворюється при розщепленні АТФ, АДФ). У зв'язку з цим можна припустити, що процес деградації пуринів та утворення СК вносить свою частку до індукції важливого патогенетичного фактора при ІРС – оксидативного стресу. Високі концентрації СК також є прооксидантним чинником, отже порушення обміну СК відображає глибокі метаболічні зрушення в організмі, що можуть спричинити низку захворювань, пов'язаних з ІРС.

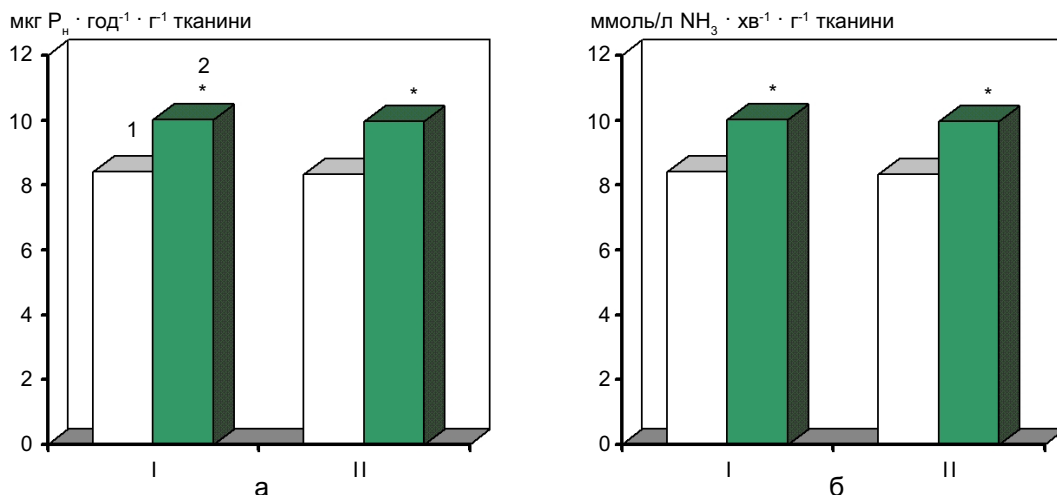


Рис. 4. Активність ферментів 5'-нуклеотидази (а) та аденозиндезамінази (б) в гомогенаті печінки самців (І) і самиць (ІІ) щурів: 1 – тварини контрольної групи, 2 – тварини дослідної групи, які отримували 10%-й розчин фруктози.

\* достовірність різниці між показниками в дослідній і контрольній групах



У щурів, на відміну від людей, СК є не єдиним кінцевим продуктом катаболізму пуринів. Частина її перетворюється на алантоїн та виводиться з сечею. Але, за даними літератури, у щурів спостерігається аналогія з людьми щодо впливу фруктози на обмін вуглеводів, ліпідів і СК, розвитку ІР, ниркової та ендотеліальної дисфункції тощо. Тому ця модель нині широко використовується для вивчення метаболічних і функціональних зрушень при ІРС.

## ВИСНОВКИ

1. Через 8 тиж вживання 10%-го розчину фруктози з питною водою у щурів спостерігається достовірно збільшення маси тіла, рівня глікемії натще (але таке, що не виходить за межі норми), підвищення концентрації тригліцеридів у сироватці крові, порушення толерантності до глюкози і зниження ІР, причому у самців ступінь усіх цих зрушень більший, ніж у самиць.

2. Вживання фруктози викликало значне підвищення концентрації СК у сироватці крові щурів. Збільшення добової екскреції СК, що вказує на її гіперпродукцію, виявлено лише у самців. Суттєве зниження ІЕУ свідчить про посилення каналцевої реабсорбції СК, яке не пов'язано зі змінами концентрації тестостерону.

3. Виявлено підвищення активності ферментів 5'-НК та АДА, які каталізують ранні стадії розпаду пуринових нуклеотидів, а також збільшення активності ферменту реутилізації уратів ГГФРТ у дослідних тварин.

**А.А. Шупрович, Н.М. Гурина,  
О.В. Корпачева-Зинич**

### **НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНЫМ СИНДРОМОМ, ИНДУЦИРОВАННЫМ ФРУКТОЗОЙ**

В последнее время употребление пищевой фруктозы рассматривается как один из факторов, способствующих развитию ожирения, инсулинорезистентного синдрома

(ИРС) и связанных с ним нарушений обмена веществ. Использование 10%-го раствора фруктозы с питьевой водой в течение 8 нед позволило получить у крыс состояние, соответствующее основным признакам ИРС: наличие инсулинорезистентности, нарушение углеводного обмена, увеличение массы тела, гипертриглицеридемия, гиперурикемия. У самцов все признаки ИРС более выражены, чем у самок. Только у самцов зафиксировано повышение суточной экскреции мочевой кислоты (МК), что свидетельствует о ее гиперпродукции. При данных условиях эксперимента у животных не наблюдалось нарушения почечной фильтрации, но отмечено снижение клиренса МК за счет увеличения почечной реабсорбции уратов по отношению к креатинину. На это указывает значительное уменьшение индекса элиминации уратов, очевидно, вызванное гипоурикозурическим эффектом инсулина, но не связанное с изменениями концентрации тестостерона. Впервые определено, что под влиянием фруктозной диеты в гомогенатах печени опытных животных увеличивается активность ферментов катаболизма пуринов – 5'-нуклеотидазы и аденозиндезаминазы, которые катализуют ранние стадии распада пуриновых нуклеотидов. Активность фермента реутилизации пуринов гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы у животных повышалась, что может иметь компенсаторное значение в условиях усиленного распада пуринов. Ключевые слова: мочевая кислота, инсулинорезистентный синдром, фруктозная диета, крысы, ферменты деградации пуринов.

**A.A.Shuprovich, N.M.Gurina,  
O.V.Korpacheva-Zinych**

### **DISORDERS OF URIC ACID METABOLISM IN RATS WITH FRUCTOSE- INDUCED EXPERIMENTAL INSULIN RESISTANCE SYNDROME**

Consumption of dietary fructose has been recently suggested to be one of the environmental factors contributing to development of obesity and accompanying abnormalities of the insulin resistance syndrome (IRS). IRS was induced in rats by adding 10% fructose to drinking water. Within 8 wk insulin resistance, carbohydrate metabolism disorder, weight gain, hypertriglyceridemia and hyperuricemia were developed. The signs of IRS were more pronounced in male than in female rats. An increase of uric acid (UA) daily excretion was revealed only in males, suggesting a hyperproductoin of UA. There was not significant disorder of kidney filtration, although an increase of UA clearance was revealed due to enhanced kidney urate reabsorbtion which may be connected to the hypouricosuric action of insulin but not the testosterone level changes. It was first revealed an increased activity of enzymes catalyzing early stages of purine catabolism (5'-nucleotidase and adenosindesaminase) in liver homogenate. Activity of enzyme of purine reutilisatoin (hypoxantin-guanine-phosphoribosil transferase) was found increased that may have a compensatory

significance under conditions of increased purine degradation.  
Key words: uric acid, insulin resistance syndrome, fructose diet, rats, purine degradation enzymes.

*State Institution "V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of National Academy of Medical Sciences", Kyiv*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена. – 2001. – 528 с.
2. Мадянов И.В., Балаболкин М.И., Марков Д.С., Маркова Т.Н. Основные причины гиперурикемии при сахарном диабете // *Терап. архив.* – 2000, №2. – С. 58–60.
3. Мухин Н.А., Балкаров И.М., Бритов А.Н. Тубулоинтерстициальный нефрит и артериальная гипертония – клиническое и популяционное значение // *Там же.* – 1997. – **69**, № 7. – С. 5–10.
4. Руководство по клинической лабораторной диагностике / Под ред. Меньшикова В.В. – М.: Медицина, 1982. – 576 с.
5. Магарламов А.Г. Аспарагиназная и аденозиндезаминазная активность в ткани печени крыс при различных условиях белкового и безбелкового питания // *Укр. биохим. журн.* – 1980. – **52**, №4. – С. 446–452.
6. Bantle J.P., Ratz S.K., Thomas W., Georgopoulos A. Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 2000. – **72**. – P. 1128–1134.
7. Dai S., McNeill J.H. Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* – 1995. – **33**. – P. 101–107.
8. Dennison B.A., Rockwell H.L., Baker S.L. Excess fruit juice consumption by preschool-aged children is associated with short stature and obesity // *Pediatrics.* – 1997. – **99**. – P. 15–22.
9. Facchini F., Chen Y.D., Hollenbeck C.B., Reaven G.M. Relationship between resistance to insulin-mediated glucose uptake, urinary uric acid clearance, and plasma uric acid concentration // *JAMA.* – 1991. – **266**. – P. 3008–3011.
10. Galipeau D., Verma S., McNeill J. Female rats are protected against fructose-induced changes in metabolism and blood pressure // *Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2002. – **283**, №6. – P. H2478–H2484.
11. Hwang I.S., Ho H., Hoffman B.B., Reaven G.M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats // *Hypertension.* – 1987. – **10**. – P. 512–516.
12. Ludwig D.S., Peterson K.E., Gortmaker S.L. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. – *Lancet.* – 2001. – **357**. – P. 505–508.
13. Masuo K., Kawaguchi H., Mikami H., Ogihara T., Tuck M.L. Serum uric acid and plasma norepinephrine concentrations predict subsequent weight gain and blood pressure elevation // *Hypertension.* – 2003. – **42**. – P. 474–480.
14. Michel R.M., Hawthorne S. N. The site of diphosphoinositol synthesis in rat liver // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1965. – **21**, № 4. – P. 333–338.
15. Nakagawa T., Hanbo Hu, Zharikov S., Tuttle K.R., Short R.A., Glushakova O., Xiaosen Ouyang, Feig D.L., Block E. R., Herrera-Acosta J., Patel J. M., Johnson R. J. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome // *Amer. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2006. – **290**. – P. F625–F631.
16. Pizzichini M., Leoncini R., Vannoni D. The influence of testosterone on purine nucleotide metabolism in rat liver // *Life Sci.* – 1995. – **57**. – P. 2127–2135.
17. Sanchez-Lozada L., Tapia E., Jimenez A. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats // *Amer. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2006. – **292**. – P. F423–F429.
18. Hare M.B., Manson J.E., Ludwig D.S. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women // *JAMA.* – 2004. – **292**. – P. 927–934.
19. Sekine T., Miyazaki H., Endou H. Molecular physiology of renal organic anion transporters // *Amer. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2006. – **290**. – P. F251–F261.
20. Song D., Arikawa E., Galipeau D., Battell M., McNeill J.H. Androgens are necessary for the development of fructose-induced hypertension // *Hypertension.* – 2004. – **43**. – P. 667–672.
21. Stirpe F., Della Corte E., Bonetti E. Fructose-induced hyperuricaemia // *Lancet.* – 1970. – №2. – P. 1310–1311.
22. Tsunoda S., Kamide K., Minami J., Kawano Y. Decreases in serum uric acid by amelioration of insulin resistance in overweight hypertensive patients: effect of a low-energy diet and an insulin-sensitizing agent // *Amer. J. Hypertens.* – 2002. – **15**. – P. 697–701.
23. Vasudevan H., Xiang H., McNeill J.H. Differential regulation of insulin resistance and hypertension by sex hormones in fructose-fed male rats // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – **289**. – P. H1335–H1342.
24. Vizzotto L., Vartemati M., Marinello E., Leoncini R., Pagani R., Pizzichini M. Effect of testosterone on purine metabolism and morphometric parameters in the rat liver // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1996. – **119**. – P. 123–127.
25. Xiang G., Lu Qi, Qiao N. Intake of added sugar and sugar-sweetened drink and serum uric acid concentration in US men and women // *Hypertension.* – 2007. – **50**. – P. 306–316.

*ДУ «Ін-т ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», Київ  
E-mail: admin@iem.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до редакції 15.01.2010*