

ВПЛИВ НІКОТИНАМІДУ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ОСТРІВЦЕВИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

© Т. М. КУЧМЕРОВСЬКА¹, Г. В. ДОНЧЕНКО¹, Т. М. ТИХОНЕНКО¹,
М. М. ГУЗИК¹, Р. В. СТАВНІЙЧУК¹, Л. В. ЯНІЦЬКА²,
С. П. СТЕПАНЕНКО¹, А. П. КЛИМЕНКО¹

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Досліджено модулюючий вплив різних концентрацій нікотинаміду (NAm) за різних концентрацій глюкози на життєздатність ізольованих клітин острівців Лангерганса підшлункової залози щурів і на окислювальний стрес, індукований стрептозотоцином (СТЗ, 5 ммоль/л) та гідроген пероксидом (H₂O₂, 100 мкмоль/л) in vitro. Встановлено, що життєздатність острівцевих клітин не залежить від концентрації глюкози в межах 5–20 ммоль/л. У подальших дослідженнях використовували глюкозу в концентрації 10 ммоль/л з метою запобігання її гіпо- та гіперглікемічної дії. Цитопротекторний вплив NAm в концентраціях 5–20 ммоль/л на виживання цих клітин був однаковим.

Встановлено, що інкубування ізольованих острівцевих клітин підшлункової залози із СТЗ та H₂O₂ протягом 24 год призводить до їх значної загибелі. Виявлено, що NAm в концентрації 5 ммоль/л не тільки виявляє цитопротекторну дію на тлі дії СТЗ та H₂O₂, але й в однаковій мірі частково знижує рівень окислювального стресу в острівцевих клітинах підшлункової залози, індукованого цими сполуками. За високої концентрації NAm (35 ммоль/л) виявляє цитотоксичну дію на клітини підшлункової залози та спричинює значну інтенсифікацію окислювального стресу на тлі дії СТЗ та H₂O₂.

Той факт, що NAm запобігає загибелі досліджуваних клітин у концентраціях значно вищих від тих, які є оптимальними для біосинтезу NAD⁺, а також для прояву його антиоксидантної дії, може свідчити про залучення й інших механізмів реалізації цитопротекторної здатності цієї сполуки, що потребує подальших досліджень.

Ключові слова: клітини острівців Лангерганса підшлункової залози, нікотинамід, життєздатність клітин, стрептозотозин, гідроген пероксид, окислювальний стрес.

Цукровий діабет (ЦД) 1-го та особливо 2-го типу на сьогодні є однією із серйозних проблем сучасної медицини, яка становить загрозу здоров'ю людей, оскільки згідно з останніми епідеміологічними дослідженнями у світі 285 мільйонів людей хворіють на це захворювання, та є прогноз, що у 2030 році кількість хворих становитиме 439 мільйонів осіб [1]. Вважають, що патогенез ЦД 1-го типу аутоімунний процес, переважно опосередкований Т-клітинами, що призводить до прогресивного руйнування бета-клітин підшлункової залози і, як наслідок, до дефіциту інсуліну [2]. Це, в свою чергу, призводить до зменшення або взагалі до відсутності відповіді на дію глюкози та інші стимули [3]. При цьому апоптоз бета-клітин підшлункової залози є ключовою подією у патогенезі діабету 1-го типу. Проте вплив факторів навколишнього середовища, зокрема харчових антигенів, токсинів і особливо вірусних інфекцій, також може призводити до

розвитку ЦД 1-го типу [4]. Діабет 2-го типу асоційований з резистентністю до інсуліну периферійних органів, таких як скелетні м'язи, жирова тканина, печінка [5]. При діабеті 2-го типу порушується секреція інсуліну бета-клітинами підшлункової залози у відповідь на глюкозу, його дія на тканини-мішені або ці процеси відбуваються одночасно, спричиняючи розвиток апоптозу або некрозу, що, в свою чергу, супроводжується втратою бета-клітин підшлунковою залозою [6–9].

Не зважаючи на те, що механізми, які лежать в основі виникнення цукрового діабету 1-го та 2-го типу відрізняються, однак характерним для обох типів є прогресивне руйнування бета-клітин підшлункової залози [10].

До розвитку цукрового діабету та виникнення численних його ускладнень, зокрема мікро- та макроангіопатій, нефропатії, периферичної нейропатії та збільшення ризику виникнення деяких видів раку під час лікування інсуліном, та інших, характер-

них для обох типів, залучені: окислювальний стрес, модифікації протеїнів, особливо їх глікозилювання, активація сигнальних шляхів, запальні процеси тощо [11–13]. В зв'язку з цим лікування цукрового діабету 1-го та 2-го типу є актуальною та водночас надзвичайно складною проблемою, вирішення якої потребує комплексних підходів з метою запобігання розвитку метаболічних, структурних та функціональних порушень в організмі.

Активация окислювального стресу на тлі гіперглікемії за ЦД у свою чергу супроводжується відносним або абсолютним зниженням активності системи антиоксидантного захисту.

Серед препаратів з широким спектром дії, зокрема антиоксидантної, цитопротекторної тощо, нашу увагу привернув нікотинамід (NAm) – біологічно активна форма вітаміну B₃, який як самостійно, так і за участю його біологічно активних похідних може модулювати шляхи обміну, що тісно пов'язані із життєздатністю клітин та їх загибеллю [14]. Наші попередні дослідження продемонстрували, що NAm та його біологічно активні похідні, зокрема метилнікотинамід (MNAm), виявляють нейротропну дію як за фізіологічних умов у нормі, так і за розвитку деяких патологічних станів нервової системи, зокрема діабетичної енцефалопатії [15–17]. Було показано, що їх дія може реалізуватись принаймні частково на рівні регуляції процесів синаптичної передачі опосередкованих NAD⁺ сигнальних систем, а також через взаємодію з іншими біологічно активними сполуками [18].

Гіперглікемія як основний патогенетичний механізм розвитку ЦД може призводити до активації утворення активних форм кисню (АФК) у багатьох клітинах, у тому числі і в острівцевих клітинах підшлункової залози [19], та зумовлювати їх апоптичну загибель [20, 21]. Тобто, пошкодження клітин та їх загибель значною мірою залежить від надмірного утворення АФК, що призводить до розвитку оксидативного стресу в клітинах [12, 19].

Однак на сьогодні механізми, які лежать в основі функціональних порушень та загибелі острівцевих клітин підшлункової залози, що призводить до розвитку гіперглікемії, остаточно не з'ясовано. Тому пошук сполук з цитопротекторними властивостями з метою захисту клітин підшлункової залози від пошкоджуючої дії вільних радикалів та розвитку дисфункцій є однією із важливих проблем у клініці ЦД.

У зв'язку з наведеним вище, метою роботи було оцінити життєздатність острівцевих клітин за різних концентрацій глюкози та нікотинамиду, протестувати дію прооксидантних сполук (стрептозотоцин, гідроген пероксид) на досліджувані клітини.

Матеріали і методи

У досліджах було використано реактиви: стрептозотоцин (СТЗ), глюкозу, 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїн діацетат, NAm, колагеназу, трипсин, ДНК-азу, барвник трипановий синій, середовище інкубації RPMI-1640, фетальну сироватку теляти фірми Sigma (США). Інші реактиви: гідроген пероксид (H₂O₂), бичачий сироватковий альбумін (БСА) тощо – кваліфікації не нижче «хч». Дослідження проводили на інтактних щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 130–150 г з вільним доступом їх до їжі та води з додержанням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001). Щурів декапітували, використовуючи пентабарбіталовий наркоз, та швидко вилучали підшлункову залозу, яку після промивки та подрібнення обробляли колагеназою, що дозволяло виділити острівці Лангерганса, з яких після обробки трипсином та ДНК-азою виділяли первинну суспензійну культуру острівцевих клітин модифікованою методикою [22], яку описано нами раніше [23]. Одержані острівцеві клітини інкубували в середовищі RPMI-1640 із додаванням 0,1% БСА, антибіотиків та відповідних концентрацій досліджуваних сполук. Процедуру інкубування проводили в планшетах при 37 °С в CO₂-інкубаторі з 5%-м вмістом CO₂ та за 100%-ї вологості. Для оцінки життєздатності острівцевих клітин одразу після виділення та через добу їх фарбували 0,2–0,5%-м розчином трипанового синього. Підрахунок живих та мертвих клітин проводили в камерах Фукс-Розенталя та Горяєва.

Окислювальний стрес в острівцевих клітинах підшлункової залози визначали за рівнем активних форм кисню, який оцінювали, використовуючи 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїн діацетат (5 мкмоль/л), який після окислення перетворювався у флуоресціюючий 2',7'-дихлорофлуоресцеїн.

Статистичну обробку одержаних даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 2007, до складу якої входить визначення стандартного *t*-критерію Стьюдента для некорельованих вибірок.

Результати та обговорення

Одним із основних факторів, залучених до розвитку цукрового діабету, є порушення метаболізму глюкози. Відомо, що глюкоза у разі її хронічного надлишку в кровотоці спричинює токсичну дію на структуру і функції різних органів, у тому числі і на підшлункову залозу. Тому важливо було оцінити вплив різних концентрацій глюкози на життєздатність клітин острівців Лангерганса. Для досліджень було вибрано такі концентрації глюкози: 2,8; 5; 10 та 20 ммоль/л. Як свідчать одержані дані, нами виявлено неочікуваний ефект глюкози у високій концентрації в умовах *in vitro* на виживання досліджуваних клітин (рис. 1). Незважаючи на те, що глюкоза в концентрації 5, 10 та 20 ммоль/л не впливає на життєздатність острівцевих клітин, у подальших дослідженнях використовували глюкозу в концентрації 10 ммоль/л, оскільки в дослідах *in vivo* рівень глюкози в крові контрольних тварин може бути вище 5 ммоль/л, а за її концентрації 20 ммоль/л розвивається гіперглікемічний стан.

Було доцільним з'ясувати чи буде різним вплив NAm в концентрації 5 ммоль/л за концентрації глюкози 5, 10 та 20 ммоль/л. Одержані дані продемонстрували, що вірогідних відмінностей за сумісної дії глюкози та NAm у вибраних концентраціях на життєздатність клітин не виявлено (рис. 1).

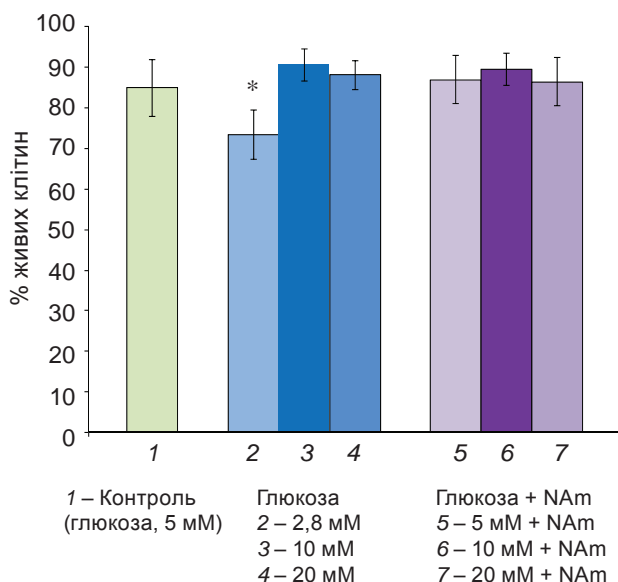


Рис. 1. Вплив нікотинаміду (NAm, 5 ммоль/л) на виживання острівцевих клітин підшлункової залози щурів за різних концентрацій глюкози *in vitro* (% живих клітин, $M \pm m$, $n = 7$). * Різниця вірогідна порівняно з групою «Контроль», $P < 0,05$

Слід зазначити, що протягом 24 год кількість живих клітин практично не зменшується і становить за дії NAm (5 ммоль/л) 92%. Навіть у концентрації 20 ммоль/л NAm не спричинює цитотоксичну дію, однак у концентрації 35 ммоль/л він виявляє істотний цитотоксичний ефект: кількість живих клітин становить всього близько 46% (рис. 2).

Відомо, що за інкубування бета-клітин підшлункової залози *in vitro* із стрептозотоцином, яким, як правило, індукують розвиток експериментального діабету, він здатен спричинити їх загибель [24]. Викликало інтерес з'ясувати: чи здатен NAm хоча б частково інгібувати апоптотичну дію стрептозотоцину на острівцеві клітини та за якої концентрації?

Острівцеві клітини передінкубували із СТЗ (5 ммоль/л) із подальшим внесенням в середовище інкубації NAm, кінцева концентрація якого становила 0,2; 1; 2; 5; 15 і 20 ммоль/л, після чого їх інкубували у планшетах при 37 °С в CO₂-інкубаторі протягом 24 год. У контрольних зразках клітин NAm і СТЗ були відсутні. Цитотоксична дія СТЗ була настільки значною, що протягом досліджуваного періоду спостерігали загибель близько 90% клітин (рис. 2). Вплив нікотинаміду на досліджувані клітини за дії на них СТЗ залежить від використаної концентрації. Так, за концентрації 0,2 ммоль/л NAm не запобігає цитотоксичній дії стрептозотоцину. Хоча цитопротекторний вплив NAm в концентрації 5 ммоль/л у незначній мірі перевищує його позитивний ефект за концентрацій 15 та 20 ммоль/л, ми використовували концентрацію 5 ммоль/л, оскільки максимальний ефект щодо впливу NAm на життєздатність острівцевих клітин досягається за його нижчої концентрації. Однак за концентрації NAm 35 ммоль/л спостерігається істотна загибель острівцевих клітин, що свідчить про його цитотоксичну дію (рис. 2).

Для оцінки впливу NAm (5 ммоль/л) на життєздатність клітин при їх пошкодженні таким цитотоксичним чинником, як H₂O₂ (100 мкмоль/л), NAm вносили в середовище інкубації на 24 год разом із гідроген пероксидом. Контрольні зразки клітин не містили NAm та H₂O₂. Виявилось, що через 24 год гідроген пероксид виявляє менш виражений цитотоксичний ефект порівняно із СТЗ на життєздатність досліджуваних клітин, однак дещо несподіваним для нас було те, що вплив NAm на тлі цієї сполуки є аналогічним такому в разі із СТЗ (69% живих клітин), рис. 3.

Виявлений нами цитопротекторний вплив NAm в концентрації 5 ммоль/л свідчить про

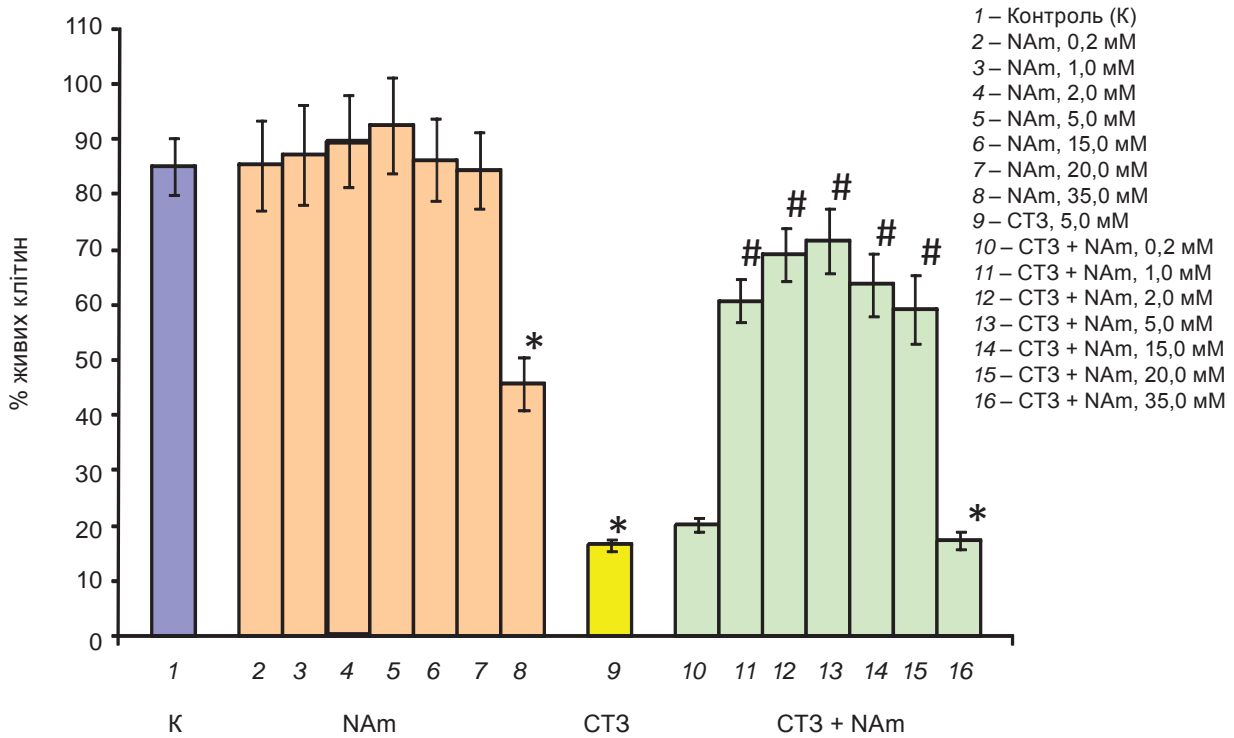


Рис. 2. Дія нікотинаміду (NAm, ммоль/л) в різних концентраціях і у присутності стрептозотоцину (СТЗ, 5 ммоль/л) на виживання острівцевих клітин підшлункової залози щурів *in vitro* (% живих клітин, $M \pm t$, $n = 7$). * Різниця вірогідна порівняно з групою «Контроль», $P < 0,05$. Різниця вірогідна порівняно з групою «СТЗ 5,0», $P < 0,05$

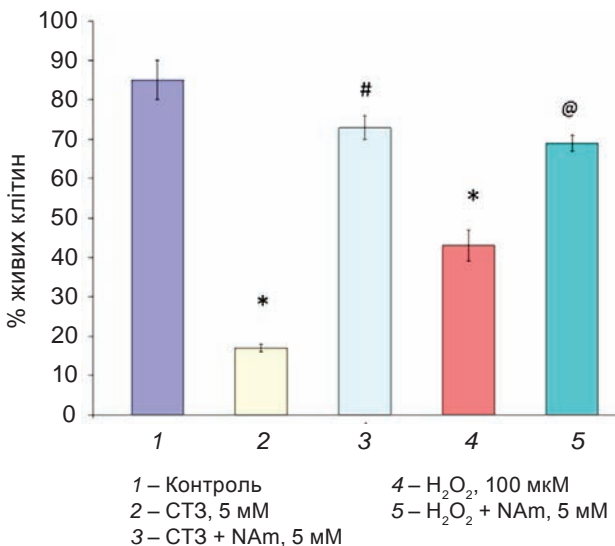


Рис. 3. Вплив нікотинаміду (NAm, 5 ммоль/л) на виживання клітин підшлункової залози щурів за дії на них стрептозотоцину (СТЗ, 5 ммоль/л) та гідроген пероксиду (H₂O₂, 100 мкмоль/л) *in vitro* (% живих клітин, $M \pm t$, $n = 7$). * Різниця вірогідна порівняно з групою «Контроль», $P < 0,05$; # Різниця вірогідна порівняно з групою «СТЗ, 5,0», $P < 0,05$; @ Різниця вірогідна порівняно з групою «H₂O₂, 100», $P < 0,05$

те, що його дія реалізується, ймовірно, через вплив на процеси полі-ADP-рибозилування протеїнів, оскільки за цієї концентрації він не є сквенджером вільних радикалів, однак є ефективним інгібітором полі-ADP-рибозополімерази-1 (PARP-1) [25, 26] – ензиму, який відіграє істотну роль у реалізації різних програм загибелі клітин, особливо на початкових етапах апоптозу, та зазнає розщеплення за дії каспази 3.

Коригуючий вплив NAm на життєздатність досліджуваних клітин може також реалізуватися шляхом підтримання клітинного пулу NAD⁺, який необхідний для синтезу інсуліну та контролю аутоімунних процесів, зокрема експресії генів HLA II класу, тим самим запобігаючи загибелі клітин. Більше того, NAm здатен пригнічувати утворення цитокінів моноцитами та макрофагами. Так, було показано, що нікотинамід у терапевтичних дозах здатен знижувати утворення в острівцевих клітинах підшлункової залози таких прозапальних цитокінів, як інтерлейкін-1 β , інтерлейкін-6, інтерлейкін-8, TNF- α [27, 28]. В активованих трансформуючим фактором росту β 1 (TGF- β 1) зірчастих клітинах печінки NAm гальмує експресію

прозапальних та профібротичних цитокінів (TGF- β 2, IL-1 β , TNF- α та хемотактичного протеїну-1 макрофагів) [29]. Також виявлено його здатність знижувати ступінь демієлінізації нервових волокон при експериментальному алергійному енцефаломієліті, у патогенезі якого істотну роль відіграють прозапальні цитокіни [30]. Позитивний ефект NAm на життєздатність клітин підшлункової залози за руйнівного впливу на них СТЗ та H₂O₂ може також реалізуватись і через його безпосередній вплив на експресію такого стресового протеїну, як p53, суттєво гальмуючи її або ж запобігаючи NAD⁺-залежному деацетилюванню p53, зумовленому sig2 α [31].

Відомо, що одним із патогенетичних факторів розвитку ЦД є надмірна активація процесів вільнорадикального окислення ліпідів (ПОЛ), індукована гіперглікемією та гіперінсулінемією [32]. На сьогодні цей процес розглядають як універсальний механізм, що об'єднує основні біохімічні шляхи токсичного впливу гіперглікемії на організм. Окислювальний стрес, який відіграє суттєву роль у розвитку численних метаболічних та функціональних порушень, може спричинити апоптичну загибель клітин, особливо за його інтенсифікації [33, 34].

На сьогодні відомо, що гіперглікемія може призвести до підвищеного утворення АФК у β -клітинах підшлункової залози [17] та

зумовити їх апоптичну загибель [19, 35]. Нами було оцінено рівень окислювального стресу в досліджуваних клітинах за дії на них СТЗ в концентрації 5 ммоль/л та H₂O₂ 100 мкмоль/л. За оцінки здатності NAm в концентрації 5 ммоль/л, за якої він може виявляти цитопротекторну дію на життєздатність клітин, було встановлено, що NAm лише частково знижує базальний рівень окислювального стресу в острівцевих клітинах підшлункової залози ($P < 0,05$), що свідчить про незначний його вплив як скевенджера вільних радикалів (рис. 4). Однак за високої концентрації, 35 ммоль/л, коли він виявляє цитотоксичну дію на клітини підшлункової залози, продемонстровано, що ця сполука спричинює значну інтенсифікацію окислювального стресу ($P < 0,05$), рис. 4. Дія СТЗ та H₂O₂, на досліджувані клітини, як видно із представлених на рис. 4 та 5 даних, супроводжується інтенсифікацією утворення АФК, причому відмічено, що з часом генерація АФК зростає впродовж всього терміну дослідження. NAm (5 ммоль/л), внесений в середовище інкубації знижує утворення АФК, спричинене СТЗ та H₂O₂, причому практично в однаковій мірі. У разі високої концентрації NAm (35 ммоль/л) спостерігається незначний адитивний ефект щодо інтенсифікації утворення АФК на тлі дії СТЗ та H₂O₂ (рис. 4, 5). Слід зазначити, що ці дані узгоджуються з результатами, одержаними

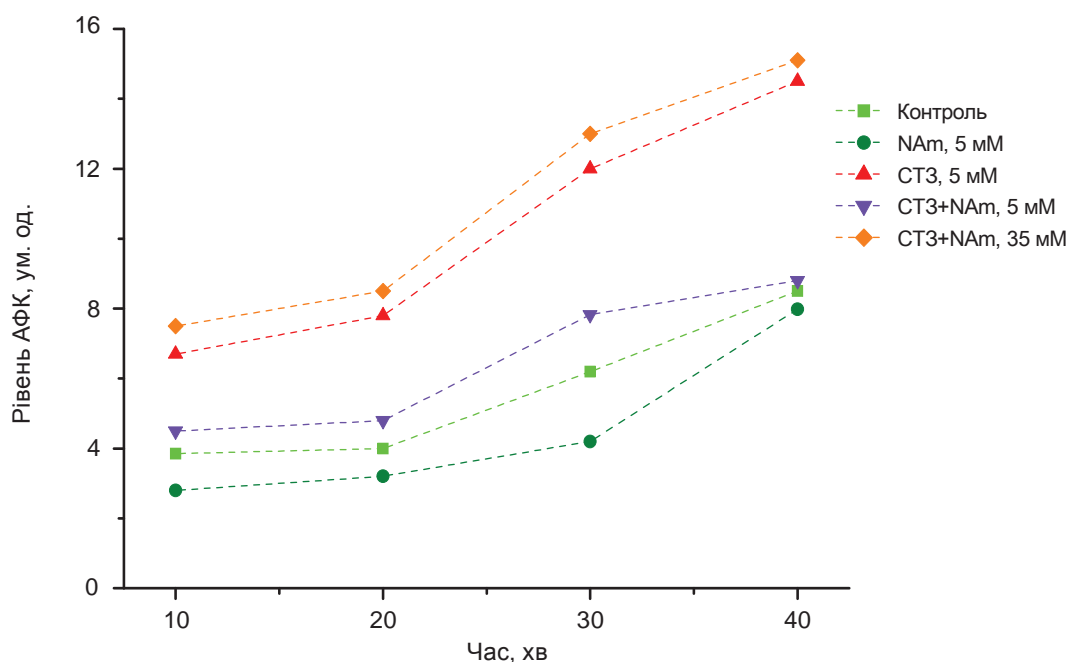


Рис. 4. Вплив нікотинаміду на продукування активних форм кисню (АФК), індукованих стрептозотоцином в острівцевих клітинах підшлункової залози ($M \pm m$, $n = 5$)

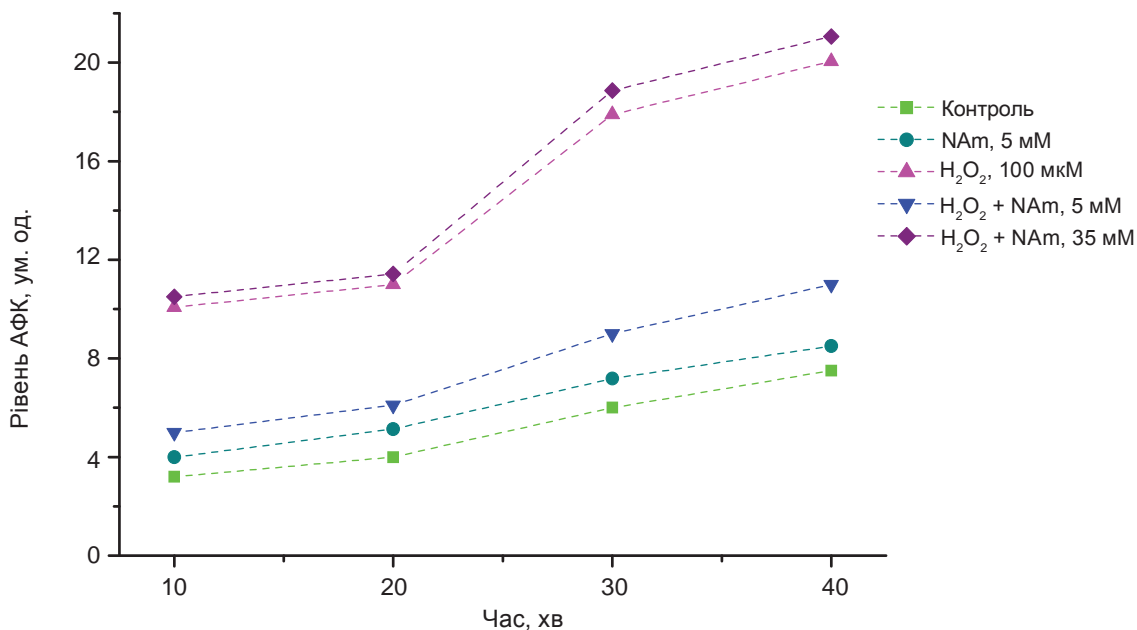


Рис. 5. Дія нікотинаміду на продукування активних форм кисню (АФК), індукованих гідроген перексидом в острівцевих клітинах підшлункової залози ($M \pm m, n = 5$)

нами раніше на нервових закінченнях головного мозку діабетичних щурів, що свідчить про те, що NAm та MNAm здатні знижувати рівень утворення АФК [16, 17]. Можна припустити, що здатність нікотинаміду впливати на розвиток окислювального стресу, індукованого СТЗ та H₂O₂, здійснюється як шляхом його впливу на перебіг процесів на поверхні зовнішньої мембрани клітин, так і на процеси в цитозолі, та особливо ті, що відбуваються в ядрі клітин. Той факт, що NAm може запобігати деградації PARP-1 та сприяти репарації ДНК шляхом прямого інгібування каспази 3, свідчить на користь його антиапоптичної дії на клітини підшлункової залози щурів [36]. Здатність NAm модулювати активність сигнальних систем, у функціонуванні яких важливу роль відіграють процеси, що відбуваються в ядрах клітин, показано нами раніше [37]. Адже інтенсифікація пошкоджень ядерної ДНК головного мозку щурів за цукрового діабету призводила до активації PARP-1, що посилювало клітинну утилізацію NAD⁺, зниження рівня якого, в свою чергу, зумовлювало падіння рівня АТФ. Це може супроводжуватись значним порушенням АТФ-залежних процесів та індукувати загибель нервових клітин. Тому не виключено, що цитопротекторна дія NAm на клітини підшлункової залози значною мірою також може реалізовуватись через інтенсифікацію біосинтезу піридинових динуклеотидів,

нормалізацію енергетичного обміну та посилення антиоксидантного захисту. Той факт, що NAm здатен запобігати загибелі досліджуваних клітин у концентраціях значно вищих від тих, які є оптимальними для біосинтезу NAD⁺, може свідчити про існування також інших механізмів його цитопротекторної дії.

Одержані результати щодо цитопротекторної здатності NAm на функціональний стан клітин острівців Лангерганса підшлункової залози доповнюють можливі біологічні функції цієї сполуки та підтверджують доцільність його застосування для запобігання розвитку цукрового діабету, що здійснюється шляхом залучення різних біохімічних механізмів, в яких він прямо або опосередковано бере участь.

Таким чином, встановлено, що СТЗ (5 ммоль/л) та H₂O₂ (100 мкмоль/л) за дії протягом 24 год спричиняють загибель ізольованих острівцевих клітин підшлункової залози, причому дія СТЗ є токсичнішою. NAm у концентрації 5 ммоль/л запобігає дії СТЗ та H₂O₂ практично однаковою мірою, а в концентрації 35 ммоль/л виявляє значну цитотоксичну дію на життєздатність клітин. Встановлено, що NAm у концентрації 5 ммоль/л частково гальмує розвиток індукованого СТЗ та H₂O₂ окислювального стресу в острівцевих клітинах підшлункової залози та інтенсифікує його в концентрації 35 ммоль/л.

ВЛИЯНИЕ НИКОТИНАМИДА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т. М. Кучмеровская¹, Г. В. Донченко¹,
Т. М. Тихоненко¹, М. М. Гузык¹,
Р. В. Ставнийчук¹, Л. В. Яницкая²,
С. П. Степаненко¹, А. П. Клименко¹

¹Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;

²Национальный медицинский университет
им. А. А. Богомольца, Киев, Украина;
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Исследовано модулирующее влияние разных концентраций никотинамида (NAм) на фоне различных концентраций глюкозы на жизнеспособность изолированных клеток островков Лангерганса поджелудочной железы крыс и на окислительный стресс, индуцированный стрептозотоцином (СТЗ, 5 ммоль/л) и гидроген пероксидом (H₂O₂, 100 мкмоль/л) *in vitro*. Установлено, что жизнеспособность клеток островков не зависит от концентрации глюкозы в пределах 5–20 ммоль/л. В последующих исследованиях использовали концентрацию глюкозы 10 ммоль/л с целью предотвращения ее гипо- и гипергликемического действия. Цитопротекторное влияние NAм в концентрациях 5–20 ммоль/л на выживание этих клеток было одинаковым.

Установлено, что инкубация изолированных клеток островков поджелудочной железы из СТЗ и H₂O₂ в течение 24 час вызывает значительную их гибель. Отмечено, что NAм в концентрации 5 ммоль/л не только проявляет цитопротекторное действие на фоне влияния СТЗ и H₂O₂, но и в одинаковой степени частично снижает уровень окислительного стресса в клетках поджелудочной железы, индуцированного этими соединениями. При высокой концентрации NAм (35 ммоль/л) оказывает цитотоксическое действие на клетки островков поджелудочной железы и вызывает значительную интенсификацию окислительного стресса на фоне действия СТЗ и H₂O₂.

Тот факт, что NAм способен предотвращать гибель исследуемых клеток в концентрациях значительно более высоких, нежели те, которые необходимы для биосинтеза NAD⁺, а также для проявления его антиоксидантного действия, может свидетельствовать о вовлечении и других механизмов, задействованных в реализации цитопротекторной способности этого соединения, что требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: клетки островков Лангерганса поджелудочной железы, никотинамид, жизнеспособность клеток, стрептозотоцин, гидроген пероксид, окислительный стресс.

NICOTINAMIDE INFLUENCE ON PANCREATIC CELLS VIABILITY

Т. М. Kuchmerovska¹, G. V. Donchenko¹,
Т. М. Tychonenko¹, M. M. Guzyk¹,
R. V. Stavniichuk¹, L. V. Yanitska²,
S. P. Stepanenko¹, A. P. Klimenko¹

¹Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

²Bogomolets National Medical
University, Kyiv, Ukraine;
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Summary

The study was undertaken to investigate the modulating effect of nicotinamide (NAм) in different concentrations and under different glucose concentrations on the viability and oxidative stress induced by streptozotocin (STZ, 5 mmol/l) and hydrogen peroxide (H₂O₂, 100 μmol/l) on isolated rat pancreatic cells of the Langerhans islets *in vitro*. Cell viability did not depend on the concentration of glucose in the range of 5–20 mmol/l, and in subsequent studies we used glucose in concentration of 10 mmol/l to protect cells against its hypo- and hyperglycemic action. Cytoprotective effect of NAм in concentrations from 5 to 20 mmol/l on cells survival was the same. It was found that the destructive action of STZ and H₂O₂ during 24 hours on isolated cells of the pancreas resulted in the significant cell death. It was revealed that NAм in concentration of 5 mmol/l not only had cytoprotective effects against STZ and H₂O₂ but also partially reduced the level of oxidative stress in the investigated cells induced by these compounds. High concentration of NAм, 35 mmol/l, causes cytotoxic effect on the viability of pancreatic islet cells and increase of oxidative stress induced by STZ and H₂O₂.

Most likely these effects could be associated with direct modulatory action of NAм on important effector mechanisms involved in cell death, including PARP-dependent processes, or/and indirectly, through metabolic and antioxidant effects of the compound.

Key words: pancreatic islet cells, nicotinamide, cell viability, streptozotocin, hydrogen peroxide, oxidative stress.

1. *Sicree R. A., Shaw J. E., Zimmet P. Z.* // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2010. – **87**, N 1. – P. 4–14.
2. *Eisenbarth G. S.* // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – **92**. – P. 2403–2407.
3. *Akirav E. M., Kushner J. A., Herold K. C.* // *Diabetes.* – 2008. – **57**, N 11. – P. 2883–2888.
4. *Oberste M. S., Pallansch M. A.* // *Ann N Y Acad. Sci.* – 2003. – **1005**. – P. 23–31.
5. *Kahn S. E., Hull R. L., Utzschneider K. M.* // *Nature.* – 2006. – **444**. – P. 840–846.
6. *Polonsky K. S., Sturis J., Bell G.* // *N. Engl. J. Med.* – 1996. – **334**. – P. 777–783.
7. *DeFronzo R. A., Bonadonna R. C., Ferrannini E.* // *Diabetes Care.* – 1992. – **15**. – P. 318–368.
8. *Meier J. J.* // *Diabetologia.* – 2008. – **51**. – P. 703–713.
9. *Kahn S. E.* // *Ibid.* – 2003. – **46**. – P. 3–19.
10. *Donath M. Y., Storling J., Maedler K., Mandrup-Poulsen T.* // *J. Mol. Med.* – 2003. – **81**. – P. 455–470.
11. *Brownlee M.* // *Nature.* – 2001. – **414**. – P. 813–820.
12. *Brownlee M.* // *Diabetes.* – 2005. – **54**. – P. 1615–1625.
13. *Hemkens L. G., Grouven U., Bender R.* // *Diabetologia.* – 2009. – **52**. – P. 1732–1744.
14. *Stevens M. J., Li F., Drel V. R. et al.* // *J. Pharmacol.* – 2007. – **320**. – P. 458–464.
15. *Шиманський І. О., Донченко Г. В., Клименко А. П., Кучмеровська Т. М.* // *Укр. біохім. журн.* – 2006. – **78**, № 4. – С. 130–136.
16. *Кучмеровська Т. М., Шиманський І. О., Донченко Г. В. та ін.* // *Мед. хімія.* – 2009. – **11**, № 1. – С. 71–74.
17. *Kuchmerovska T., Shymanskyu I., Chlopicki S., Klimenko A.* // *Neurochem. Int.* – 2010. – **56**. – P. 221–228.
18. *Baynes J. W.* // *Diabetes.* – 1991. – **40**. – P. 405–412.
19. *Maiese K., Morhan S. D., Chong Z. Z.* // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2007. – **4**. – P. 63–71.
20. *Chong Z. Z., Shang Y. C., Maiese K.* // *Ibid.* – P. 194–204.
21. *Gehrmann W., Elsner M., Lenzen S.* // *Diabetes Obes. Metab.* – 2010. – Suppl 2. – P. 149–158.
22. *Kinasiewicz A., Juszczyk M., Pachecka J. et al.* // *Physiol. Res.* – 2004. – **53**. – P. 327–333.
23. *Шиманський І., Донченко Г., Гуріна Н. та ін.* // *Доп. НАН України.* – 2010. – № 9. – С. 156–161.
24. *Cardinal J. W., Margison G. P., Mynett K. J. et al.* // *Mol. and Cel. Biol.* – 2001. – **21**, N 16. – P. 5605–5613.
25. *Lee H. I., Jang S. Y., Kang H. T., Hwang E. S.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – **368**, N 2. – P. 298–304.
26. *Szabo Csaba* // *Intensive Care Med.* – 2003. – **29**, N 6. – P. 863–866.
27. *Moberg L., Olsson A., Berne C. et al.* // *Transplantation.* – 2003. – **76**. – P. 1285–1288.
28. *Ungerstedt J. S., Blomback M., Soderstrom T.* // *Clin. Exp. Immunol.* – 2003. – **131**. – P. 48–52.
29. *Traister A., Breitman I., Bar-Lev E. et al.* // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2005. – **40**. – P. 1226–1234.
30. *Kaneko S., Wang J., Kaneko M. et al.* // *J. Neurosci.* – 2006. – **26**. – P. 9794–9804.
31. *Luo J., Nikolaev A. Y., Imai S. et al.* // *Cell.* – 2001. – **107**. – P. 137–148.
32. *Slomka M., Zieminska E., Lazarewicz J.* // *Acta Neurobiol. Exp. (Wars).* – 2008. – **68**. – P. 1–9.
33. *Hao J., Shen W., Tian C. et al.* // *J. Cell. Mol. Med.* – 2009. – **13**. – P. 701–711.
34. *Duarte A. I., Santos P., Oliveira C. R. et al.* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – **1783**. – P. 994–1002.
35. *Maiese K., Chong Z. Z., Shang Y. C., Hou J.* // *Expert Opin. Ther. Targets.* – 2008. – **12**. – P. 905–916.
36. *Chong Z. Z., Lin S. H., Li F., Maiese K.* // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2005. – **2**. – P. 271–285.
37. *Kuchmerovska T., Shymanskyu I., Donchenko G. et al.* // *J. Diabetes Complications.* – 2004. – **18**, N 4. – P. 198–204.

Отримано 23.09.2011