

Регуляция синуклеинами и синглетным кислородом выработки инсулина у мышей

Жарких Е.В.^{1*}, Локтионова Ю.И.¹, Дрёмин В.В.¹, Чапров К.Д.², Дунаев А.В.¹, Нинкина Н.Н.²,
Абрамов А.Ю.^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», Орёл, Россия;

²Институт физиологически активных веществ ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка, Россия;

³Department of Clinical and Movement Neurosciences, UCL Queen Square Institute of Neurology, London, UK;

ev.zharkikh@gmail.com

Сахарный диабет является хроническим заболеванием, которое характеризуется повышенным содержанием глюкозы в крови. Состояние гипергликемии возникает в результате действия двух основных факторов: недостаточной выработки инсулина поджелудочной железой и снижения чувствительности клеток к нему. Для диабета характерно возникновение осложнений, затрагивающих все системы организма.

Ранее было продемонстрировано, что существует тесная связь между метаболизмом глюкозы, митохондриальной функцией и секрецией инсулина. Было показано, что потеря функции PINK1 (основная причина раннего начала аутосомно-рецессивной болезни Паркинсона (БП) – распространенного прогрессирующего нейродегенеративного заболевания), по-видимому, нарушает чувствительность к глюкозе, что приводит к усиленному высвобождению инсулина. На основе этих данных был сделан вывод о связи БП с сахарным диабетом 2 типа. В патофизиологии обоих заболеваний существуют общие механизмы, включающие митохондриальную дисфункцию, окислительный стресс, гипергликемию и воспаление. Гистопатологической характеристикой БП является формирование нейротоксических агрегатов нейрональных белков синуклеинов, вызванное различными факторами, включая мутации в генах синуклеинов. В физиологических условиях мономерный α -синуклеин продемонстрировал способность повышать эффективность АТФ-синтазы.

В связи с этим, целью данной работы явилось изучить регуляцию выработки инсулина синуклеинами. Дополнительно была поставлена задача оценить возможное влияние облучения светом с длиной волны 1267 нм, приводящего к выработке синглетного кислорода, на продукцию инсулина в организме животного.

Для измерения применяли иммуноферментный анализ с использованием фосфо-специфических антител против рецепторов инсулина (Rat/Mouse Insulin ELISA, Merck KGaA, Германия). Для исследований применялась плазма крови. Плазму получали, забирая у мышей 200 мкл цельной крови, которой позволяли свернуться при комнатной температуре в течение 30 мин и впоследствии центрифугировали при температуре 4 °С. В качестве положительного контроля использовали пробы мышинного инсулина в концентрациях 0,2, 0,5, 1, 2, 5 и 10 нг/мл. В исследовании использовались трансгенные мыши, нокаутные по генам SNCA, SNCB, SNCG и с тройным нокаутом генов альфа-, бета- и гамма-синуклеина, для контроля использовались мыши дикого типа.

Для оценки влияния низкоинтенсивного инфракрасного облучения с длиной волны 1267 нм на продукцию инсулина две мыши дикого типа были подвержены облучению. Излучение доставлялось по оптическому волокну специально сконструированного устройства, которое фиксировалось на проксимальной части середины хвоста животного для облучения хвостовой вены. Доза облучения составила 50 Дж/см² для одного животного и 100 Дж/см² для второго. Спустя 5 мин после осуществления облучения у животных отбирали по 200 мкл цельной крови для дальнейшего проведения иммуноферментного анализа.

Результаты работы показали, что в крови мышей дикого типа содержалось $2,7 \pm 0,2$ нг/мл инсулина. Практически таким же значением ($2,8 \pm 0,3$ нг/мл) обладали мыши с двойным нокаутом генов альфа- и гамма-синуклеина. Наименьшие уровни инсулина отмечены у мышей с нокаутом генов бета- ($0,2 \pm 0,1$ нг/мл) и гамма-синуклеина ($0,6 \pm 0,1$ нг/мл), а также у мышей с тройным нокаутом генов альфа-, бета- и гамма-синуклеина ($0,3 \pm 0,0$ нг/мл). Облучение крови животных лазером 1267 нм приводило к увеличению концентрации инсулина в крови, причем это увеличение, по всей видимости, имело дозозависимый эффект. При облучении светом с дозой 50 Дж/см² концентрация инсулина в крови составила $0,6 \pm 0,1$ нг/мл, при 100 Дж/см² – $1,9 \pm 0,2$ нг/мл.

Таким образом, в настоящей работе было показано, что нокаут генов, кодирующих белки синуклеинов, ассоциирован со снижением выработки инсулина с наиболее заметными проявлениями при нокауте генов бета- и гамма-синуклеина, а также при тройном нокауте. Неинвазивная оптическая генерация синглетного кислорода в организме животного приводит к дозозависимому повышению концентрации инсулина в крови.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2022-1095 (изучение связи нокаута генов с выработкой инсулина), а также гранта Российского Научного Фонда №22-75-10088 (исследования с лазером 1267 нм).
