

## КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 572.788:577.151.6

©Кузнецова, Чистякова

### РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ГЛИКОГЕНСИНТАЗЫ ПЕПТИДАМИ ИНСУЛИНОВОГО СУПЕРСЕМЕЙСТВА В МИОМЕТРИИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ЕЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ САХАРНОГО ДИАБЕТА

*Л.А. Кузнецова, О.В. Чистякова\**

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
194223, Санкт-Петербург, пр. Тореца 44; тел: (812)5523117; факс: (812)5523012;  
эл. почта: chiosana@yandex.ru

Исследовано регуляторное влияние инсулина, инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) и релаксина на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) и гликогенсинтазы (ГС) в миометрии у беременных в контрольной группе и при диабете различной этиологии. Активность Г6ФДГ не отличалась от контроля при диабете 1 типа, а при диабете 2 типа и гестационном сахарном диабете (ГСД) резко снижалась. Пептиды максимально стимулировали Г6ФДГ у контрольной группы при концентрации  $10^{-9}$  М, и ряд эффективности их действия был следующий: инсулин > релаксин > ИФР-1. При диабете 1 типа эффект инсулина был ниже, чем в контроле, а ИФР-1 и релаксина отсутствовал. При диабете 2 типа и гестационном диабете эффект инсулина и ИФР-1 снижался, а эффект релаксина усиливался; таким образом, ряд эффективности действия пептидов был следующий: релаксин > ИФР-1 = инсулин. Пептиды в концентрации  $10^{-8}$  М сходно стимулировали активную форму ГС-I, не изменяя общей активности фермента у контрольной группы беременных. При диабете 1 типа активность ГС не изменялась по сравнению с контролем, а пептиды не стимулировали активности фермента. При диабете 2 типа на фоне существенного падения активности ГС эффекты пептидов снижались, и ряд эффективности пептидов был следующий: инсулин = ИФР-1 > релаксин. При гестационном диабете как леченом, так и нелеченом, активность фермента снижалась, действие инсулина было слабее, а эффект релаксина и ИФР-1 усиливался: релаксин > ИФР-1 > инсулин. Лечение инсулином диабета 1 типа неспособно полностью восстановить чувствительность ферментов к действию пептидов. В то же время, лечение гестационного диабета препаратами инсулина усиливало стимулирующий эффект релаксина на активность ферментов. Этот факт может свидетельствовать о выполнении релаксином функции замещения в условиях ослабления действия инсулина.

**Ключевые слова:** инсулин, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, гликогенсинтаза, миометрий, беременность, диабет.

**ВВЕДЕНИЕ.** Инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1) и релаксин – пептиды, имеющие общее эволюционное происхождение и обладающие структурно-функциональным сходством, что дало основание объединить их в инсулиновое суперсемейство. Эти пептиды обладают целым спектром биологических эффектов [1, 2]. ИФР-1, основным местом синтеза которого является печень, контролирует процессы клеточной пролиферации и дифференцировки, оказывает ростовые эффекты. Релаксин, синтезируемый в основном яичниками и плацентой, участвует в регуляции репродуктивных процессов. Инсулин синтезируется бета-клетками поджелудочной железы и основной его метаболический эффект – гипогликемия, приводящая к усилению утилизации глюкозы и синтезу гликогена. При недостатке инсулина развивается гипергликемия, что является основным диагностическим признаком сахарного

\* - адресат для переписки

диабета. Сахарный диабет является причиной целого ряда функциональных нарушений. В частности, диабет является неблагоприятным фактором для беременности. Беременность – сложное метаболическое состояние, при котором обмен веществ изменяется в соответствии с тем, чтобы удовлетворить энергетические потребности как матери, так и растущего плода. В клинической практике различают несколько типов сахарного диабета. Диабет 1 типа – инсулинозависимый, обусловлен снижением или полным прекращением выработки инсулина. Заболевание, как правило, обнаруживается, еще в детстве. Для лечения используют инсулин. Диабет 2 типа – инсулинонезависимый, определяется снижением чувствительности тканей к гормону. Кроме того, описывают диабет беременных или гестационный диабет, который развивается после 28-ой недели беременности и представляет собой нарушения утилизации глюкозы, исчезающие после родов. Лечение проводится инсулином. Современная тенденция к росту числа беременных, больных диабетом, делает актуальным изучения в данном направлении. Ряд исследований посвящен изучению гормональной регуляции при беременности [3, 4]. Накоплены данные о нарушениях передачи гормонального сигнала при диабете и развитии инсулинорезистентности периферических тканей, в частности, мышечной [5]. Наряду с этим нам известна одна работа [6], изучающая ферментативные системы в тканях матки в ходе беременности при диабете. Недостаточность сведений литературы дало основание для предпринятого нами исследования функционального состояния двух ключевых ферментов углеводного обмена – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и гликогенсинтетазы, являющихся мишенями регуляторного влияния инсулина и родственных ему гормонов, в миометрии у беременных женщин в контрольной и диабетической группах.

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49) – ключевой фермент пентозофосфатного пути. Обеспечивая продукцию NADPH и пентоз в клетке, Г6ФДГ играет важную роль в регуляции углеводного и липидного обменов, участвует в ростовых процессах клетки [7], является антиоксидантным ферментом [8]. Особый интерес представляют данные о взаимосвязи активности Г6ФДГ и сахарного диабета. Показано, что пациенты со сниженной активностью Г6ФДГ в эритроцитах входят в группу риска развития диабета [9]. Эти данные позволяют рассматривать Г6ФДГ как функциональный маркер диабетических состояний и использовать изучение активности фермента в качестве диагностического теста на диабет.

Гликогенсинтаза (ГС; КФ 2.4.1.11) – скорость-лимитирующий фермент синтеза гликогена. ГС катализирует перенос остатка глюкозы от УДФ-глюкозы на гликоген. Активность фермента регулируется в основном двумя механизмами: аллостерически (глюкозо-6-фосфатом – Г6Ф) и фосфорилированием/дефосфорилированием. Инсулин стимулирует ГС посредством её дефосфорилирования, переводя фермент из неактивной и зависимой от Г6Ф D-формы (dependent) в активную и независимую от Г6Ф I-форму (independent). При сахарном диабете выявлен ряд нарушений в регуляции ГС. В мышцах больных диабетом 1 типа чувствительность фермента к Г6Ф снижена [10]. При диабете 2 типа отмечено увеличение фосфорилирования фермента при действии инсулина [11].

Цель настоящей работы: исследование регуляторного влияния пептидов инсулинового суперсемейства на активность Г6ФДГ и ГС в миометрии беременных у контрольной и диабетических групп. Конкретные задачи работы: 1) определить активность Г6ФДГ и ГС в миометрии беременных женщин перед родами; 2) сравнить влияние инсулина, ИФР-1 и релаксина на активность ферментов в миометрии у беременных и у беременных, страдающих сахарным диабетом 1, 2 типов и гестационным диабетом.

**МЕТОДИКА.** Исследовано несколько групп беременных женщин: 1) с доношенной беременностью – условный контроль (первые и вторые роды,

20 чел.); 2) с диабетом 1 типа (первые роды, 8 чел.); 3) с диабетом 2 типа (вторые роды, 7 чел.); 4) с гестационным диабетом, нелеченные (вторые роды, 5 чел.) и леченные инсулином (вторые роды, 4 чел.). Образцы ткани миометрия получены из нижнего сегмента матки в результате операции кесарева сечения.

**Определение активности Г6ФДГ и ГС.** При определении активности Г6ФДГ ткань гомогенизировали в растворе (1:1): 50 мМ трис-НСl (рН 8,0) и 0,15 М КСl, а при исследовании активности ГС в смеси (2:1:1): 0,05 М трис-НСl (рН 7,4), 0,25 М сахароза и 0,06 М NaF. Гормоны добавляли *in vitro* (от  $10^{-10}$  до  $10^{-7}$  М) к гомогенату ткани и инкубировали 30 мин, помешивая, при комнатной температуре. В контрольные пробы вместо гормонов добавляли 50 мМ трис-НСl (рН 8,0 для Г6ФДГ, рН 7,4 для ГС). Изучаемые ферменты являются цитозольными белками, поэтому далее выделяли супернатантную фракцию, центрифугированием гомогената в течение 10 мин при 2400 g на холоду.

Активность Г6ФДГ определяли методом [12] в нашей модификации [13]. Проба (объем 2 мл) содержала: 50 мМ трис-НСl (рН 8,0), 1 мМ  $MgCl_2$ , 0,1 мМ NADP, 0,2 мМ Г6Ф и 0,1-0,2 мл экстракта. В контрольную пробу субстраты не добавляли. Измерения проводили на спектрофотометре Karl Zeiss при длине волны 340 нм в течение 10 мин. Активность фермента оценивали по увеличению оптической плотности во времени при превращении NADP в NADPH.

Активность ГС определяли в супернатанте методом, разработанным для мышечной ткани [14]. Определялась активная форма фермента (в отсутствие Г6Ф – ГС-I) и общая активность ГС-t (total) в присутствии Г6Ф. Состав инкубационной среды для образования продукта ГС реакции – уридиндифосфата (UDP), включал: 2,67 мМ UDP-глюкозы, 12 мМ трис-НСl (рН 7,4), 0,5 мМ ЭДТА, 1,5 мМ цистеина, 0,4 мг гликогена и 30-50 мкл супернатанта для определения ГС-I, и с добавлением 1 мкМ Г6Ф при определении общей активности фермента. Пробы инкубировали 10 мин при 37°C, после чего кипятили 1 мин и центрифугировали 10 мин при 2400 g. Состав реакционной смеси в кювете спектрофотометра (объем 2,0 мл) для определения образованного UDP: 50 мМ трис-НСl (рН 7,4), 0,9 мМ  $MgSO_4$ , 2,7 мМ КСl, 0,48 мМ фосфоенолпируват (ФЕП), 0,003 мМ NADH, избыток пируваткиназы и лактатдегидрогеназы и 50-100 мкл супернатанта. Измерения проводили на спектрофотометре Karl Zeiss при длине волны 340 нм в течение 10 мин. При переходе восстановленной формы NAD в окисленную происходит изменение оптической плотности, которое регистрируется спектрофотометрически. Количество образованного NAD находится в эквимольном соотношении с продуктом ГС реакции – UDP.

**Определение белка** проводили по методу Бредфорд с использованием бычьего  $\gamma$ -глобулина в качестве стандарта.

**Реактивы.** Трис-НСl, глюкозо-6-фосфат (Г6Ф), 6-фосфоглюконат, гликоген, цистеин, уридиндифосфатглюкоза (УДФГ), NADP, NADH, фосфоенолпируват (натриевая соль, ФЕП), пируваткиназа и лактатдегидрогеназа, рекомбинантный инсулин человека и рекомбинантный ИФР-1 человека ("Sigma", США). Кристаллический релаксин 2 человека был любезно предоставлен Dr. Wade (Университет Мельбурна, Австралия).

**Статистический анализ.** Данные представлены в виде средней  $\pm$  стандартная ошибка средней. Сравнение контроля и экспериментальных данных (действие гормонов) проводили методом парных сравнений Стьюдента. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

**Активность Г6ФДГ.** У контрольной группы активность фермента при вторых родах была выше в 2,5 раза, чем в миометрии первородящих женщин (рис. 1а,б), что можно объяснить увеличением синтеза белка фермента [15]. При диабете 1 типа (первые роды) активность Г6ФДГ не отличалась от контроля. При диабете 2 типа и гестационном диабете (вторые роды) активность Г6ФДГ снижалась на 60-70% по сравнению с контролем.

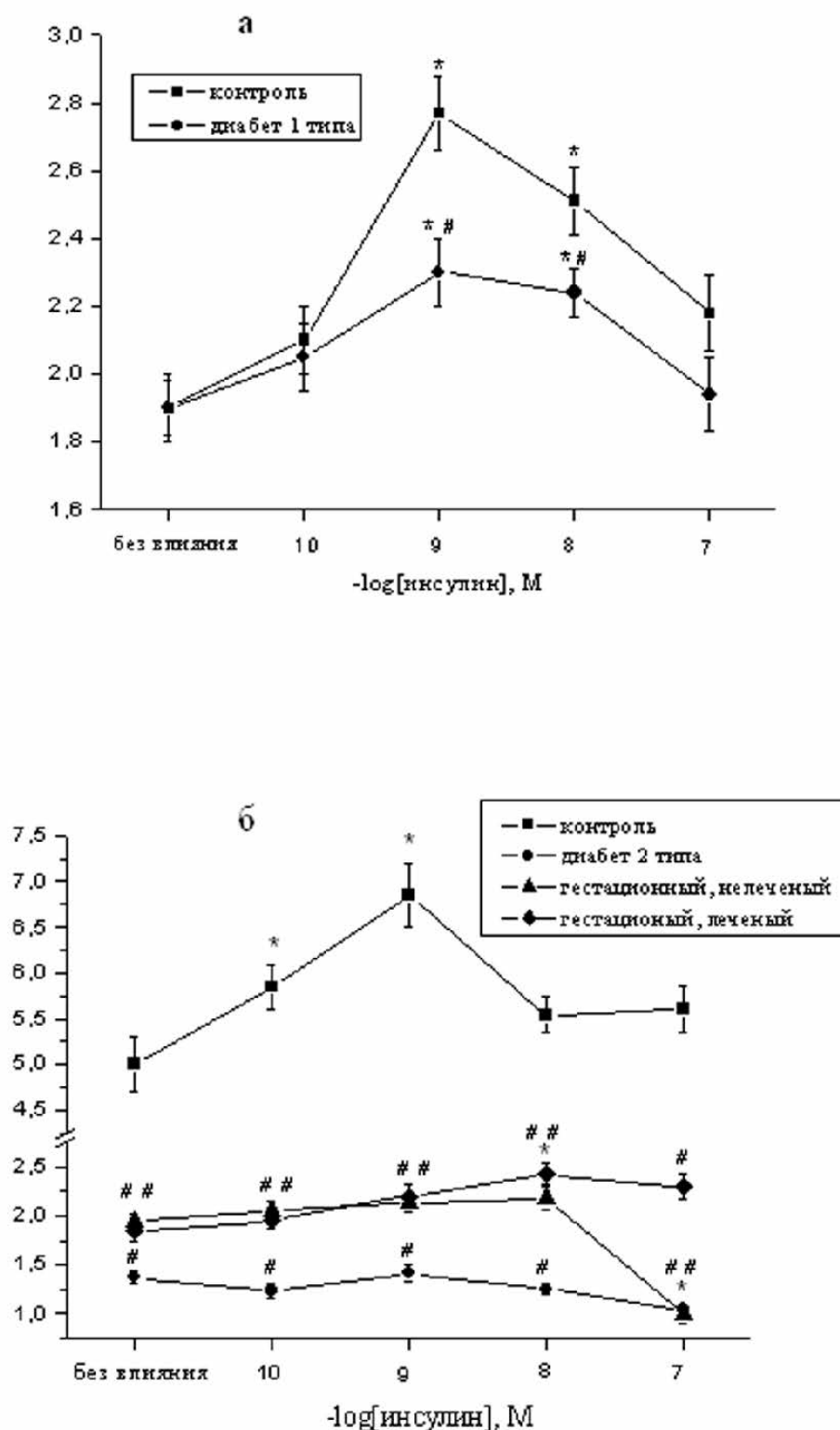


Рисунок 1.

Влияние инсулина на активность Г6ФДГ в миометрии беременных при первых (а) и вторых (б) родах в контрольной и диабетических группах.

По оси ординат – активность Г6ФДГ, мкмоль NADPH / мг белка / мин.

\* - достоверное изменение активности фермента при добавлении пептида.

# - достоверное отличие данных от контрольных величин.

Инсулин максимально стимулировал активность Г6ФДГ при  $10^{-9}$  М в миометрии контрольной группы как при первых, так и при вторых родах (рис. 1а,б). При диабете 1 типа кривая дозозависимости эффекта инсулина располагалась ниже кривой, характерной для контрольной группы (рис. 1а). При диабете 2 типа стимулирующее влияние инсулина было слабо выражено или отсутствовало (рис. 1б). При гестационном диабете (как леченом, так и нелеченом) кривые дозозависимости влияния гормона располагались ниже кривой, характерной для контроля (рис. 1б). У беременных, не получавших лечения инсулином, эффект гормона слабо проявлялся при концентрации  $10^{-8}$  М и отсутствовал при больших дозах. У беременных, получавших инсулин, эффект гормона обнаруживался только при высоких концентрациях –  $10^{-8}$ - $10^{-7}$  М.

Сравнительное изучение влияния пептидов инсулинового суперсемейства на активность Г6ФДГ в миометрии беременных женщин контрольной группы выявило, что инсулин, ИФР-1 и релаксин оказывали максимальную стимуляцию фермента при концентрации  $10^{-9}$  М (рис. 2). Как при первых, так и при вторых родах, наибольший Г6ФДГ-стимулирующий эффект оказывал инсулин, несколько слабее был эффект релаксина, и еще слабее ИФР-1. При диабете 1 типа влияние ИФР-1 и релаксина на активность фермента отсутствовало. При диабете 2 типа стимулирующий эффект релаксина был сходен с контролем, а влияние инсулина и ИФР-1 не выявлялось. Данные, полученные при исследовании беременных с нелеченым гестационным диабетом, были сходны с результатами, полученными для диабета 2 типа. При лечении инсулином гестационного диабета, чувствительность Г6ФДГ к пептидам возрастала. Ряд эффективности гормонов сохранялся: наибольший стимулирующий эффект оказывал релаксин, причем его влияние проявлялось даже сильнее, чем в контроле; эффекты ИФР-1 и инсулина были сходны и незначительно отличались от контрольных величин.

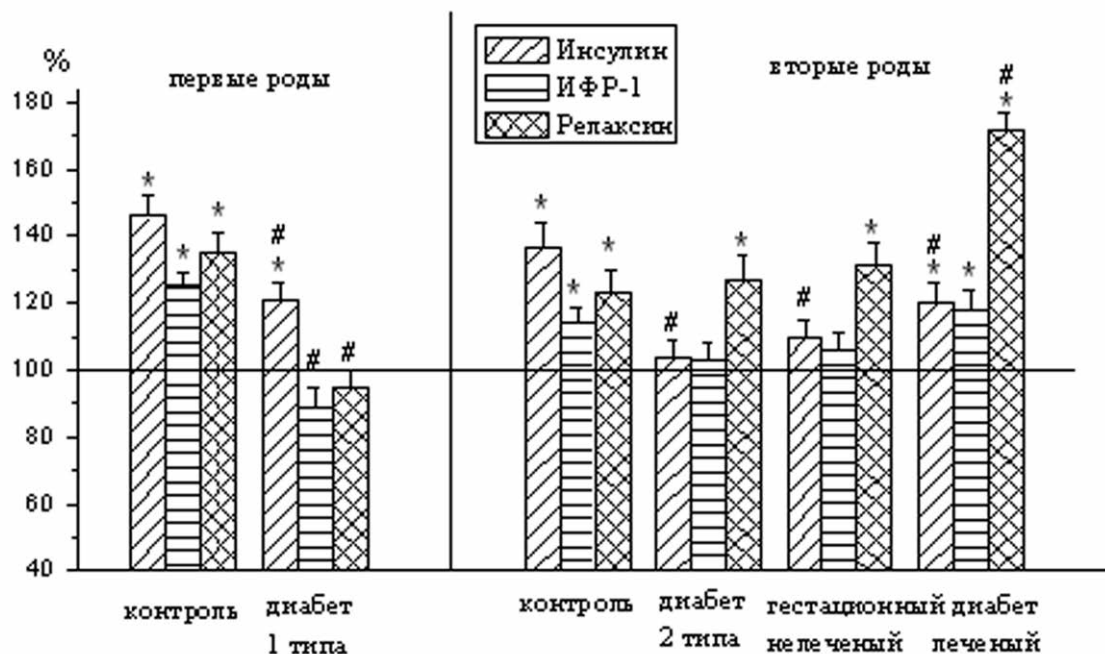


Рисунок 2.

Влияние пептидов инсулинового суперсемейства ( $10^{-9}$  М) на активность Г6ФДГ в миометрии беременных в контрольной и диабетических группах.

По оси ординат – стимуляция активности Г6ФДГ при действии пептидов, выраженная в % от контроля, принятого за 100%.

Остальные обозначения как на рис. 1.



## ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНОВЫХ ПЕПТИДОВ НА ОБМЕН ГЛИКОГЕНА ПРИ ДИАБЕТЕ

По данным литературы, инсулин стимулирует активность Г6ФДГ в ряде тканей, в том числе и мышечной, что осуществляется, как предполагают, за счет усиления экспрессии мРНК фермента [16]. Однако окончательного мнения о механизме Г6ФДГ-стимулирующего действия инсулина ещё не сложилось. Несколько яснее картина в отношении изменений регуляции активности ферменты при диабетической патологии. При экспериментальном диабете 1 и 2 типов активность Г6ФДГ значительно снижается во многих тканях, включая мышечную, что может быть обусловлено несколькими причинами. Известно, что в регуляции активности Г6ФДГ важную роль играет уровень гликемии. Как показано нами и другими авторами [17-21], при диабете в условиях гипергликемии может происходить ингибирование активности фермента за счет следующей последовательности событий: гипергликемия ведет к возрастанию базальной активности аденилатциклазы, к накоплению сАМР и активации протеинкиназы А (ПКА), которая фосфорилирует и ингибирует Г6ФДГ. Другой механизм регуляции активности Г6ФДГ предполагает следующее: при диабетической гипергликемии наблюдается усиление процесса гликирования белков, в том числе ферментов, при взаимодействии  $\text{NH}_2$  групп лизиновых и аргининовых аминокислотных остатков белков с глюкозой или другими сахарами. Показано, что активность Г6ФДГ резко снижается в процессе гликирования [22]. Конформационные изменения гликированного фермента, наряду с падением активности, приводят к невосприимчивости фермента к влиянию пептидов инсулиновой природы. Можно полагать, что рассмотренные механизмы приводят к падению активности Г6ФДГ и снижению ее чувствительности к пептидам инсулинового ряда при диабетической патологии у беременных.

*Активность ГС.* В миометрии контрольных групп (первые и вторые роды) активность ГС была представлена двумя изоформами – активной ГС-I и неактивной ГС-D, причем ГС-I преобладала, составляя ~60% от общей активности фермента (рис. 3а). При первых и вторых родах активность фермента не различалась, что позволило объединить данные в общий контроль. При диабете 1 типа на фоне лечения инсулином активность ГС-I несколько возрастала (на 16%), при том, что общая активность фермента не отличалась от контроля, соответственно, было отмечено увеличение (на 13%) отношения I/t (рис. 3б). При диабете 2 типа наблюдалось резкое снижение активности ГС – общей на 78%, а ГС-I на 50 % (рис. 3а). Падение активности ГС также было выявлено в миометрии беременных с гестационным диабетом. Эффект был сильнее выражен у беременных, не получавших лечения инсулином. Так, активность ГС-t по сравнению с контролем снижалась на 80 %, активность ГС-I – на 87%, а отношение I/t – на 35%. Лечение инсулином приводило к возрастанию активности ГС почти в 3 раза, как за счет активной так и неактивной форм фермента (рис. 3а).

Изученные пептиды в миометрии контрольной группы (первые и вторые роды) стимулировали активность ГС-I, но не влияли на активность ГС-t (рис. 3а), что приводило к увеличению величины I/t (рис. 3б). При концентрации  $10^{-8}$  М пептиды сходно стимулировали ГС-I на 44, 43 и 46%, что вызывало увеличение отношения I/t на 39, 35 и 37%.

При диабете 1 типа стимулирующее влияние пептидов на активность ГС не обнаруживалось (рис. 3а). При диабете 2 типа на фоне существенного снижения активности фермента, влияние пептидов на активность ГС-I (рис. 3а) и величину отношения I/t (рис. 3б) было сходно, но выражено слабее, чем в контроле.

При гестационном диабете в миометрии беременных, нелеченных инсулином, на фоне резкого снижения активности ГС, влияние пептидов инсулинового ряда различалось. Так, эффект инсулина на активность ГС-I отсутствовал, ИФР-1 стимулировал фермент на 97%, релаксин действовал еще сильнее, стимулируя активность на 197% (рис. 3а). Таким образом, ряд эффективности пептидов был следующий: релаксин > ИФР-1 > инсулин (рис. 3б). Стимулирующие эффекты релаксина и ИФР-1 на активность ГС-I, даже более

выраженные по сравнению с контролем, при отсутствии влияния инсулина, могут быть связаны с компенсаторной ролью этих пептидов в условиях нарушения функций инсулина [23], регуляторные потенции которого резко снижены в условиях диабетической патологии.

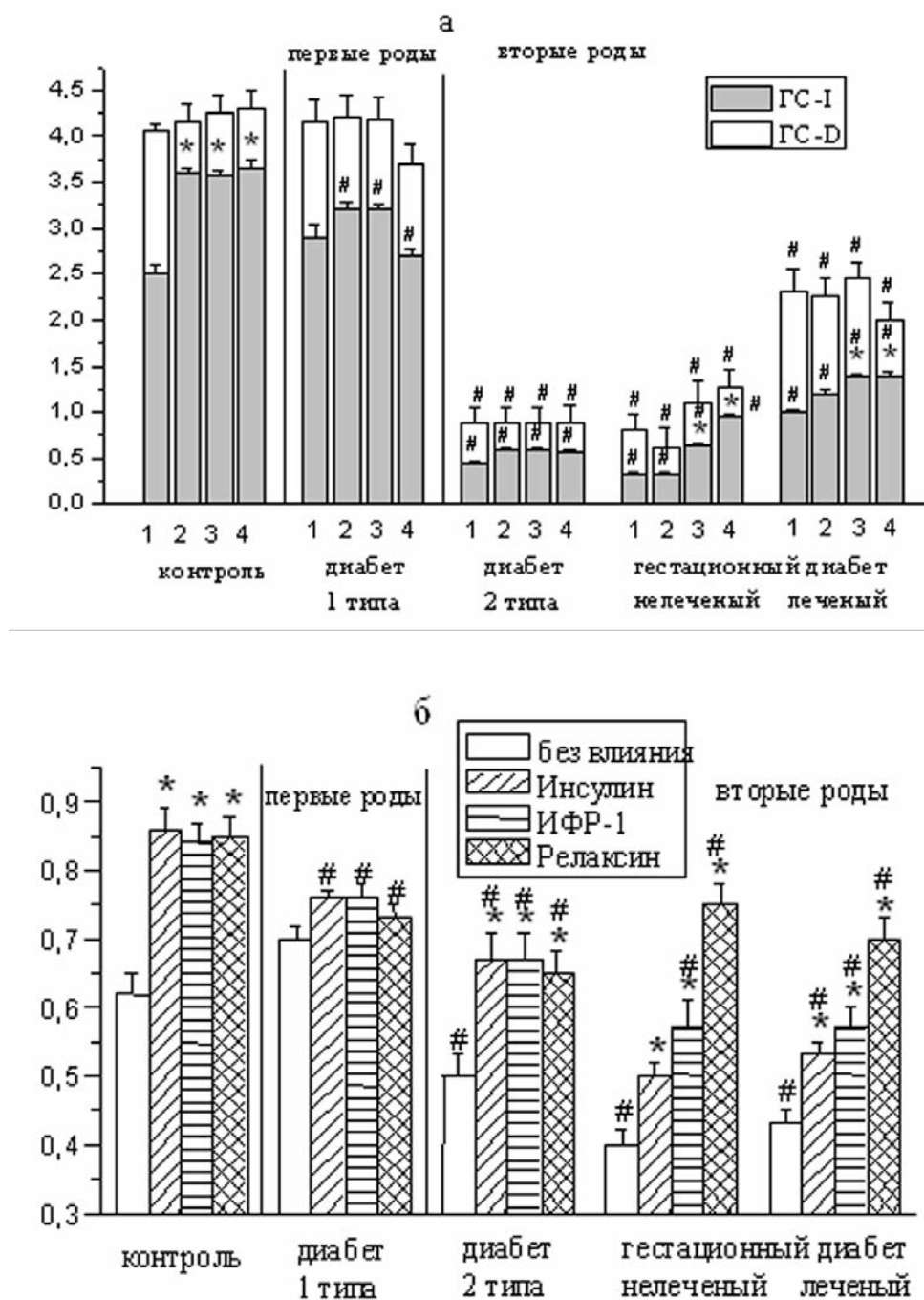


Рисунок 3.

Влияние пептидов инсулиновой природы ( $10^{-8}$  M) на GS-I и общую активность фермента (а) и на величину отношения GS-I/t (б) в миометрии беременных в контрольной и диабетических группах.

а). По оси ординат – активность GS, мкмоль NAD / мг белка / мин. Столбик целиком – общая активность GS (t). 1 – без влияния; 2 – инсулин; 3 – ИФР-1; 4 – релаксин.

Остальные обозначения как на рис. 1.

Как было отмечено, лечение инсулином гестационного диабета повышало активность фермента в 2,5 раза. Однако, это не повлияло на чувствительность ГС-I к стимулирующему действию пептидов инсулиновой группы: инсулин стимулировал фермент на 20%, ИФР-1 и релаксин – на 40%, т. е. выявленные эффекты были слабее, чем в контроле.

Данные, полученные при сравнительном изучении влияния пептидов инсулинового суперсемейства на активность ГС в миометрии беременных, свидетельствуют, что действие изученных пептидов сходно и проявляется в стимуляции ГС-I без влияния на общую активность фермента. В отношении ГС-стимулирующего эффекта инсулина в мышечной ткани предполагается следующая цепь сигнальных событий: взаимодействие инсулина с рецептором стимулирует тирозинкиназу рецептора. Далее происходит фосфорилирование внутриклеточных сигнальных белков, в частности, фосфатидилинозитид-зависимой протеинкиназы (PDK1), которая активирует протеинкиназу B; последняя фосфорилирует киназу 3 гликогенсинтазы (GSK3), ингибируя её и тем самым способствуя дефосфорилированию ГС и активации этого фермента [24, 25]. При диабете 2 типа в скелетных мышцах возрастает как исходная, так и инсулинстимулируемая активности GSK3 (примерно в 2 раза), и, как следствие, снижается активность ГС [24]. Можно предполагать, что подобный сигнальный механизм задействован и при реализации ГС-стимулирующих эффектов инсулина, ИФР-1 и релаксина в миометрии беременных женщин.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ.** Полученные данные позволяют заключить, что: а) в миометрии беременных женщин при диабете 1 типа активность Г6ФДГ и ГС не изменяется, а при диабете 2 типа и гестационном снижается по сравнению с контролем; б) стимулирующее влияние инсулина и ИФР-1 на активность Г6ФДГ и ГС при различных типах диабета снижается и полностью не восстанавливается при лечении препаратами инсулина. Лечение инсулином гестационного диабета может усилить стимулирующий эффект релаксина на активность ферментов.

*Выводы.* У контрольной группы беременных при вторых родах активность Г6ФДГ была выше, чем при первых. Пептиды максимально стимулировали Г6ФДГ у контрольной группы при концентрации  $10^{-9}$  М, и ряд эффективности их действия был следующий: инсулин > релаксин > ИФР-1. При диабете 1 типа эффект инсулина был ниже по сравнению с контролем, а ИФР-1 и релаксина отсутствовал. При диабете 2 типа и гестационном диабете эффект инсулина и ИФР-1 снижался, а эффект релаксина усиливался, таким образом, ряд эффективности действия пептидов был следующий: релаксин > ИФР-1 = инсулин.

Пептиды в концентрации  $10^{-8}$  М сходно стимулировали ГС-I, не изменяя общей активности фермента. При диабете 1 типа активность ГС не изменялась по сравнению с контролем, влияние пептидов отсутствовало. При диабете 2 типа на фоне существенного падения активности ГС эффекты пептидов снижались, и ряд эффективности пептидов был следующий: инсулин = ИФР-1 > релаксин. При гестационном диабете активность фермента снижалась, действие инсулина было менее выражено, а эффект релаксина и ИФР-1 усиливался: релаксин > ИФР-1 > инсулин.

Мы благодарим В.М. Болотских, сотрудника Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д.И. Отта РАМН, за предоставление и описание материала. Работа поддержана грантами Российского Фонда фундаментальных исследований № 06-04-48809 и программы Президиума РАН “Фундаментальные науки – Медицине” 2008.



## ЛИТЕРАТУРА

1. *Claeys I., Simonet G., Poels J., Van Loy T., Vercammen L., De Loof A., Vanden Broeck J.* (2002) *Peptides*, **23**, 807-816.
2. *Sherwood O.D.* (2004) *Endocrine Reviews*, **25**, 205-234.
3. *Butte N.F.* (2000) *Am J. Clin. Nutr.*, **71**, 1256S-1261S.
4. *Lain K.Y., Catalano P.M.* (2007) *Clin. Obstet. Gynecol.*, **50**, 938-948.
5. *Paradisi G., Biaggi A., Ferrazzani S., De Carolis S., Caruso A.* (2002) *Diabetes Care*, **25**, 560-564.
6. *Su X., Schuler L., Shapiro S.* (1996) *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, **59**, 459-465.
7. *Tian W.N., Braunstein L.D., Pang J., Stuhlmeier K.M., Xi Q.C., Tian X., Stanton R.C.* (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 10609-10617.
8. *Xu Y., Osborne B.W., Stanton R.C.* (2005) *Am. J. Physiol.*, **289**, F1040-1047.
9. *Wan G.H., Tsai S.C., Chiu D.T.* (2002) *Endocrine*, **19**, 191-195.
10. *Orskov L., Schmitz O., Bak J.F., Lund S., Kaal A., Nyholm B., Muller N.* (2001) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **61**, 371-381.
11. *Højlund K., Staehr P., Hansen B.F., Green K.A., Hardie D.G., Richter E.A., Beck-Nielsen H., Wojtaszewski J.F.* (2003) *Diabetes*, **52**, 1393-1402.
12. *Stanton R.C., Seifer J.L., Boxer D.C., Zimmermann E., Cantley L.C.* (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 12442-12448.
13. *Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Шпаков А.О., Бондарева В.М., Перцева М.Н.* (2004) *Ж. эвол. биохим. и физиол.*, **40**, 334-343.
14. *Кузнецова Л.А., Шарова Т.С.* (1997) *Ж. эвол. биохим. и физиол.*, **33**, 421-430.
15. *Anderson O., Falholt K., Kuhl C.* (1989) *Diabet Med.*, **6**, 131-136.
16. *Berg E.A., Wu J.Y., Campbell L., Kagey M., Stapleton S.R.* (1995) *Biochimie*, **77**, 919-924.
17. *Zhang Z., Apse K., Pang J., Stanton R.C.* (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 40042-40047.
18. *Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Шпаков А.О., Омелянюк Е.В., Болотских В.М., Перцева М.Н.* (2004) *Ж. акушерства и женских болезней*, **53**, 33-38.
19. *Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Шпаков А.О., Шарова Т.С.* (2004) *Ж. эвол. биохим. и физиол.*, **40**, 325-333.
20. *Kuznetsova L.A., Plesneva S.A., Shpakov A.O., Pertseva M.N.* (2005) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1041**, 446-448.
21. *Pertseva M.N., Shpakov A.O., Kuznetsova L.A., Plesneva S.A., Omeljaniuk E.V.* (2006) *Cell Biol. Internat.*, **30**, 533-540.
22. *Bulteau A.L., Verbeke P., Petropoulos I., Chaffotte A.F., Friguet B.* (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 45662-45668.
23. *Baudry A., Lamothe B., Bucchini D., Jami J., Montarras D., Pinset C., Joshi R.L.* (2001) *FEBS Lett.*, **488**, 174-178.
24. *Nikoulina S.E., Ciaraldi T.P., Mudaliar S., Mohideen P., Carter L., Henry R.R.* (2000) *Diabetes*, **49**, 263-271.
25. *Cohen P., Frame S.* (2002) *Nature Reviews*, **2**, 769-778.

Поступила: 06. 02. 2008.

THE REGULATION OF GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE AND  
GLYCOGEN SYNTHASE ACTIVITIES BY INSULIN SUPERFAMILY PEPTIDES IN  
MYOMETRIUM OF PREGNANT WOMEN AND ITS IMPAIRMENTS UNDER DIFFERENT  
TYPES OF DIABETES MELLITUS

*L.A. Kuznetsova, O.V. Chistyakova*

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,  
Thorez pr. 44, St. Petersburg, 194223 Russia, tel.: (812)5523117; fax: (812)5523012;  
e-mail: chiosana@yandex.ru

The regulatory effects of insulin, insulin-like growth factor 1 (IGF-1), and relaxin on glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and glycogen synthase (GS) activities have been studied in myometrium of pregnant women of control group and with diabetes mellitus of different etiology. In patients with type 1 diabetes G6PDH activity did not differ from the control group, but the enzyme activity was sharply decreased in pregnant women with type 2 diabetes and gestational diabetes. In the control group maximal stimulation of G6PDH activity was observed at  $10^{-9}$  M of peptides and their stimulating effect decreased in the following order: insulin > relaxin > IGF-1. In pregnant women with types 1 diabetes insulin effect on the enzyme activity was lower than in the control, and the effects of IGF-1 and relaxin were absent. In the group of pregnant women with type 2 diabetes and gestational diabetes the effects of insulin and IGF-1 were decreased, but the effect of relaxin was somewhat higher thus giving the following order in their efficiency relaxin > IGF-1 = insulin. At  $10^{-9}$  M peptides exhibited similar stimulating effects on the active form of GS-I, but had no influence on the total enzyme activity in the control group of pregnant women. In patients with type 1 diabetes GS activity remained unchanged (versus control), and peptides did not stimulate the enzyme activity. In patients with type 2 diabetes a significant decrease in GS activity was accompanied by the decrease in the effect of peptides, giving the following order of their efficiency: insulin = IGF-1 > relaxin. In myometrium of pregnant women with gestational (treated and untreated) diabetes GS activity decreased, the effect of insulin was weaker, whereas the effects of relaxin and IGF-1 increased thus giving the following order of their efficiency: relaxin > IGF-1 > insulin. Insulin therapy of type 1 diabetes incompletely restored sensitivity of the enzymes to the peptide actions. At the same time, in women with gestational diabetes and subjected to insulin therapy the stimulating effect of relaxin on the enzyme activities increased. This fact suggests that relaxin exhibits replacement functions under conditions of attenuated insulin action.

**Key words:** insulin, glucose-6-phosphate dehydrogenase, glycogen synthase, myometrium, pregnancy, diabetes.