

UDC 619: 591.436: 636.8

## SORBITOL DEHYDROGENASE OF CATS BLOOD UNDER DIABETES MELLITUS

I. Chala, V. Rusak

### Article info

Received  
10.02.2020

Accepted  
11.03.2020

Zhytomyr  
National  
Agroecological  
University  
7, Staryi Blvd,  
Zhytomyr,  
10008, Ukraine

E-mail:  
[innachala312@ukr.net](mailto:innachala312@ukr.net);  
[v.s.rusak@gmail.com](mailto:v.s.rusak@gmail.com)

**Chala, I., Rusak, V. (2020). Sorbitol dehydrogenase of cats blood under diabetes mellitus. *Scientific Horizons*, 03 (88), 90–95. doi: 10.33249/2663-2144-2020-88-3-90-95.**

*Diabetes mellitus is one of the most widely spread non-infectious cats and dogs diseases and in modern times it is reaching epidemic levels.*

*The purpose of the research was to determine enzymes activity, which is a marker of liver's functional activity: alanine aminotransferase, asparagine aminotransferase, alkaline phosphatase and sorbitol dehydrogenase in cats suffering from diabetes mellitus, and another purpose was to study the dynamics of sorbitol dehydrogenase activity. Two groups of cats aged 5–7 years old (males and females) 10 cats in each group were formed for the research. A control group comprised clinically healthy animals, experimental group comprised animals diagnosed with diabetes mellitus.*

*The results of the research showed that in cats of the experimental group the glucose content was 3.31 times as high as in cats of a control group. Fructosamine characterizes the duration of hyperglycemia and in cats diagnosed with diabetes mellitus its content overshoot the control indices by 32 %, that testifies to a long-standing increase in glucose amount. Because of diabetes mellitus, water-salt metabolism is damaged, for instance blood osmolality is increased. The determination of enzymes activity showed that transaminase activity doubled, whereas the alkaline phosphatase activity increased by 25 %. The concentration of total bilirubin increased more than three-fold as compared to the control.*

*The sorbitol dehydrogenase activity in cats diagnosed with diabetes mellitus was in 2.25 times higher as compared to the animals in a control group. The activity of this enzyme, contrary to transaminase activity, is increased during the first days after hepatic dysfunction symptoms.*

*Thus, in cats diagnosed with diabetes mellitus, liver function abnormality is developed which is manifested in activity changes of alanine aminotransferase, asparagine aminotransferase, alkaline phosphatase in the increase in bilirubin concentration as well as in the increase of sorbitol dehydrogenase activity. This enzyme is a valuable biochemical marker of liver function abnormality on the early stages of pathology development.*

**Key words:** polyol pathway, liver, enzymes, osmolality, hyperglycemia.

## АКТИВНІСТЬ СОРБИТОЛДЕГІДРОГЕНАЗИ КРОВІ КОТІВ ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

I. В. Чала, В. С. Русак

Житомирський національний агроєкологічний університет  
бульвар Старий, 7, м. Житомир, 10008, Україна

*Цукровий діабет є одним з найпоширеніших незаразних захворювань котів та собак і на сучасному етапі набуває епідемічних масштабів. Метою досліджень було встановлення активності ферментів, що є маркерами функціональної активності печінки: аланінамінотрансферази, аспарагін-амінотрансферази, лужної фосфатази та сорбітолдегідрогенази у котів з цукровим діабетом та*

дослідження динаміки активності сорбітолдегідрогенази. Для досліджень було сформовано дві групи котів віком 5–7 років (самці та самки) по 10 голів у кожній. Контрольна група складалась із клінічно здорових тварин, дослідна – із тварин, що мали діагноз цукровий діабет.

Результати досліджень показали, що у котів дослідної групи вміст глюкози був у 3,31 раза вищим, ніж у контрольній групі. Фруктозамін характеризує тривалість гіперглікемії, і у котів з цукровим діабетом його вміст перевищував контрольні показники на 32 %, що є ознакою тривалого підвищення вмісту глюкози. У результаті цукрового діабету порушується водно-сольовий обмін, зокрема зростає осмоляльність крові. Визначення активності ферментів показало, що активність трансаміназ зростає вдвічі, тоді як активність ЛФ зростала на 25 %. Концентрація загального білірубину зростала порівняно до контролю більш, ніж на третину.

Активність СДГ у котів з цукровим діабетом була у 2,25 вищою, ніж у тварин контрольної групи. Активність даного ферменту, на відміну від активності трансаміназ, зростає у перші доби після симптомів печінкової дисфункції.

Установлено, що у котів з цукровим діабетом розвивається порушення функцій печінки, що проявляється у зміні активності аланінамінотрансферази, аспарагінамінотрансферази, лужної фосфатази, збільшення концентрації білірубину та збільшення активності сорбітолдегідрогенази. Даний фермент є цінним біохімічним маркером порушень функції печінки на ранніх стадіях розвитку патології.

**Ключові слова:** поліольний шлях, печінка, ферменти, осмоляльність, гіперглікемія.

### Вступ

Серед незаразних патологій дрібних домашніх м'ясоїдів цукровий діабет набуває епідемічних масштабів. Дане захворювання характеризується цілою низкою ускладнень, зокрема поліурією та неконтрольованим сечовипусканням, діабетичною катарактою, необхідністю використання спеціальних кормів з низьким вмістом вуглеводів. Вказані зміни призводять до зростання частки випадків використання евтаназії щодо тварин, хворих на цукровий діабет. За результатами (Niessen et al., 2017) більше 10 % власників тварин з діагнозом цукровий діабет ініціюють евтаназію тварин. Лікування цукрового діабету є досить вартісним і вимагає значних зусиль як від ветеринарного лікаря, так і від власника тварини. Важливим у вирішенні даної проблеми є діагностування даного захворювання на ранніх стадіях розвитку, зокрема виявлення змін у метаболізмі, що лежать в основі розвитку ускладнень діабету. На сучасному етапі доведено, що цукровий діабет котів за клінічними, фізіологічними та біохімічними проявами схожий до такого у людини (Hoening, 2012). Оскільки цукровий діабет є хворобою, що з різним ступенем порушує всі ланки метаболізму, то вкрай важливим є його дослідження на молекулярному рівні.

Як відомо, цукровий діабет розвивається у випадках, коли підшлункова залоза зменшує синтез гормону інсуліну та паралельно з цим знижується чутливість периферичних тканин до

нього. Результатом таких змін є підвищення рівня глюкози у крові, виділення її з сечею (глюкозурія), спрага. Змінюються за таких умов і біохімічні процеси, зокрема зменшується розщеплення глюкози основним шляхом, зменшується активність пентозофосфатного та зростає активність поліольного шляхів обміну глюкози (Rand & Martin, 2001), зростає інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (Chala et al., 2018).

Одним з шляхів утилізації глюкози за цукрового діабету є поліольний метаболічний шлях, який включає дві основні біохімічні реакції: відновлення глюкози до шестиатомного спирту сорбітолу та перетворення останнього у фруктозу під дією ферменту сорбітолдегідрогенази (СДГ) (Jeffery & Jörnvall, 1983; Liang-jun, 2018). Фермент СДГ запобігає накопиченню сорбітолу, який, локалізуючись у кристаликах ока, спричиняє виникнення діабетичної катаракти, у клітинах інших тканин збільшує осмолярність (De Leeuw et al., 1993; Salgado et al., 2000).

Сорбітолдегідрогеназа – фермент, що належить до класу оксидоредуктаз (КФ 1.1.1.14), є складним білком, що містить іони Цинку або Мангану і у якості коферменту – НАДФН<sub>2</sub> (Darmanin & El-Kabbani, 2004). Експериментальні дослідження показали, що введення інгібітора СДГ призводить до виникнення нейропатій (Schmidt et al., 2001) та інших паталогічних змін.

Фермент СДГ локалізується у практично в усіх тканинах, які використовують глюкозу як

основне енергетичне джерело, однак його активність у них надзвичайно низька. Виключення становить печінка, у якій активність порівняно висока, що забезпечує утворення фруктози – ключового метаболіту у процесах гліколізу та пентозофосфатного циклу. Сорбітолдегідрогеназа, на відміну від трансаміназ, що широко використовуються як маркери функціонального стану печінки, є органоспецифічним ферментом і зростання його активності є ознакою ураження печінки в доклінічному періоді (Ranghavedra & Rao, 2000). Оскільки печінка відіграє ключову роль у метаболізмі, то дослідження її функціонального стану за цукрового діабету є надзвичайно важливим (Verbrughe & Bakovic, 2013).

Метою досліджень, представлених у даній статті, було вивчення активності СДГ та інших біохімічних показників крові котів за цукрового діабету.

### Матеріали та методи

Дослідження проводилися на базі «Ветеринарної клініки доктора Медведєва», м. Київ і кафедри паразитології, ветеринарно-санітарної експертизи та зоогієни ЖНАЕУ. Були відібрані дві групи котів віком 5–7 років різної статі й породи по 10 голів у кожній. Контрольна група включала клінічно здорових тварин, які оглядалися перед щепленням або проходили диспансеризацію. Дослідна група складалась з тварин, яким був поставлений діагноз цукровий діабет на основі клінічного огляду та лабораторних досліджень. Кров для біохімічних досліджень відбирали з підшкірної вени передпліччя (*V. cephalica antibrachii*) з дотриманням правил асептики і антисептики. У сироватці крові визначали концентрацію глюкози, активність ферментів аланінаміно-трансферази (АЛТ), аспарагінамінотрансферази (АСТ), лужної фосфатази (ЛФ), загального білірубину за допомогою біохімічного аналізатора

StatFax 1904. Активність СДГ у сироватці крові визначали уніфікованим методом Севела-Товарека, принцип якого полягає, у тому, що СДГ за наявності НАДФН<sub>2</sub> перетворює сорбітол у фруктозу, яка при взаємодії з резорцином утворює забарвлену сполуку оксиметил-фурфурол, інтенсивність забарвлення якої прямо залежить від концентрації фруктози. Концентрацію оксиметилфурфуролу визначали методом фотометрії при  $\lambda$  – 500–560 нм (Alekseev et al., 2013). Концентрацію фруктозаміну визначали кінетичним колориметричним методом з нітросинім тетразолієм, який відновлюється до формазану, концентрацію якого визначали фотометрично. Визначення фруктозаміну проводили з використанням набору реактивів «Лабораторная диагностика». Осмолярність крові визначали розрахунковим методом з урахуванням вмісту глюкози, сечовини, білка та електролітів.

Статистична обробка одержаних результатів проводилася за допомогою програми *Microsoft Excel 2016*; окрім середнього арифметичного та стандартної похибки середнього визначали критерій узгодженості Пірсона ( $\chi^2$ ) та критерій Стьюдента.

### Результати досліджень та обговорення

Цукровий діабет характеризується, у першу чергу, гіперглікемією, однак одноразове підвищення вмісту глюкози не дозволяє поставити остаточний діагноз, для виявлення стійкої гіперглікемії визначають вміст фруктозаміну – продукту неферментативної взаємодії глюкози та білків сироватки крові. Результати досліджень біохімічних показників, що є індикаторами цукрового діабету представлені в таблиці 1.

Уміст глюкози у сироватці крові котів з цукровим діабетом був у 3,31 раза більший, ніж у контролі.

Таблиця 1. Вміст глюкози, фруктозаміну та осмолярності крові котів за цукрового діабету,  $M \pm m$ ,  $n=10$

Показник	Контрольна група	Дослідна група	$\chi^2$
Глюкоза, ммоль/л	5,52±0,523	18,26±1,907**	88,97
Фруктозамін, ммоль/л	309,9±10,23	429,6±10,41*	467,08
Осмолярність крові, мосмоль/л	288±5,45	379,5±10,15**	307,76

Примітка: \*, \*\* – різниця між показниками контрольної та дослідної групи статистично достовірна на рівні відповідно  $p < 0,05$  і  $p < 0,01$ .

Гіперглікемія у тварин може виникати не лише за цукрового діабету, але і у результаті стресу, наприклад, під час проведення певних маніпуляцій. З метою підтвердження довготривалої гіперглікемії визначали фруктозамін, який показує можливу наявність гіперглікемії упродовж 2-х тижнів до проведення аналізу. У котів дослідної групи концентрація даного показника була вищою за контрольні значення на 32 %, при цьому  $\chi^2$  набував найвищих значень, що свідчить про значні індивідуальні відмінності даного показника. Вказані коливання пояснюються коливаннями вмісту глюкози упродовж доби, що і відображає вміст фруктозаміну, тоді як

концентрація глюкози визначається натще.

Осмоляльність крові частково відображає осмотичний тиск тканин і є одним з показників, що характеризують ступінь набряку останніх. Осмоляльність крові тварин з цукровим діабетом була більшою за таку у контролі на 32 %.

За цукрового діабету печінка – один з органів, які у першу чергу зазнають функціональних змін, оскільки у ній зосереджені ферментні системи, що забезпечують знешкодження патологічних продуктів обміну речовин. У таблиці 2 представлені результати дослідження активності індикаторних ферментів та білірубину, що характеризують функціональний стан органу.

Таблиця 2. Біохімічні маркери функціонального стану печінки котів за цукрового діабету,  $M \pm m$ ,  $n=10$

Показник	Контрольна група	Дослідна група	$\chi^2$
Активність АЛТ, Од/л	52,8±5,89	102±9,69*	474
Активність АСТ, Од/л	23,32±2,23	47,24±5,82*	266
Активність ЛФ, Од/л	41,7±4,85	52,3±6,31	14,9
Активність СДГ, Од/л	1,14±0,127	2,56±0,191*	18,46
Концентрація загального білірубину, мкмоль/л	6,38±1,23	8,78±1,35	12,7

Примітка: \* – різниця між показниками контрольної та дослідної групи статистично достовірна на рівні відповідно  $p < 0,05$ .

Ферменти АЛТ, АСТ і ЛФ індикаторами цитолізу і характеризують ступінь руйнування клітин. Окрім печінки вказані ферменти містяться у інших органах та тканинах і тому не є органоспецифічними. Традиційно АЛТ вважається «печінковим» ферментом і його активність у крові зростає за цитолізу клітин печінки. Активність АЛТ у крові котів з цукровим діабетом була у 1,93 раза більшою, ніж у тварин контрольної групи. Фермент АСТ переважно локалізується у мітохондріях клітин і його вважають «серцевим», однак за хвороб печінки зростання його активності може бути індикатором глибини цитолітичних процесів. Активність цього ферменту у тварин дослідної групи зростала порівняно з тваринами контрольної групи у 2,03 раза, що свідчить про глибокий цитоліз. Активність ще одного індикаторного ферменту – лужної фосфатази також зростала на 25 %. Відмінності між інтенсивністю зростання активності трансаміназ (АЛТ і АСТ) і ЛФ може пояснюватися тим, що у крові містяться у різних частках ізоферменти ЛФ, зокрема кісткова. Ще одним біохімічним маркером функціонального стану печінки є вміст білірубину. У котів з

цукровим діабетом його концентрація була на 37 % більшою за контроль, однак коливання даного показника досить широкі.

Сорбітолдегідрогеназа, на відміну вищезначених ферментів, є органоспецифічним, тобто основна активність цього ферменту крові має печінкове походження. У котів дослідної групи активність даного ферменту була у 2,25 раза більшою, при цьому слід зазначити, що різниця між показниками була статистично достовірна. Разом з тим, індивідуальна варіабельність даного показника була досить широкою, у деяких особин контрольної групи була подібна до такої у представників дослідної групи, так критичні значення цього показника для рівня значимості  $\alpha=0,05$  і ступеня свободи  $df=9$  становить 16,919, що близьке до одержаного у результаті досліджень.

Одержані у результаті досліджень зміни активності СДГ та інших ферментів – індикаторів функціонального стану печінки – показали широку варіабельність останнього показника, тому виникла необхідність дослідження активності даного ферменту у динаміці. Оскільки такі дослідження вимагають періодичного взяття

крові, у даному експерименті взяли участь дві тварини з цукровим діабетом, що знаходилися на стаціонарному лікуванні у клініці. У крові тварин

визначали активність СДГ та АЛТ упродовж 10 діб, кров відбирали кожних дві доби. Результати дослідження представлені на рис. 1.

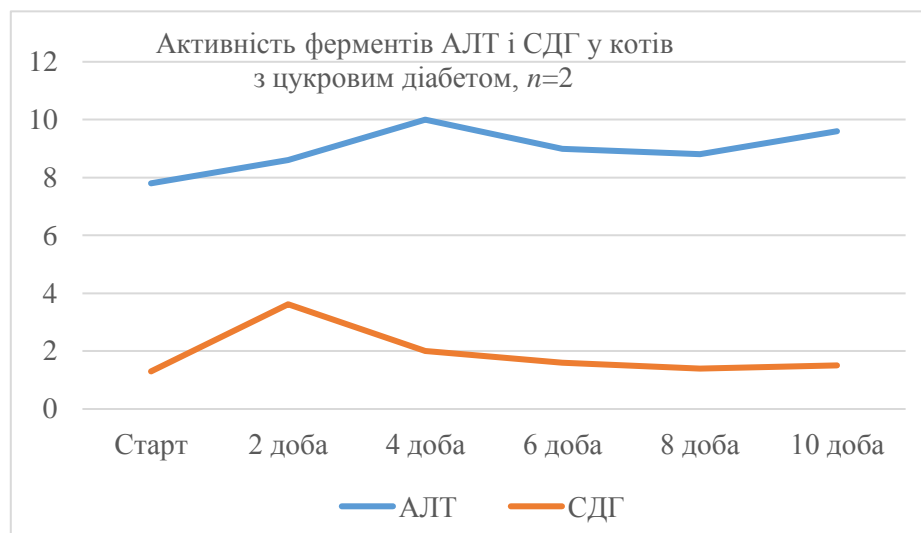


Рис. 1. Динаміка активності АЛТ і СДГ крові котів з цукровим діабетом, Од/л (АЛТ x 10 Од/л), n=2.

Динаміка даних ферментів дещо відрізняється, – активність СДГ зростає на ранніх стадіях печінкової недостатності (за появи перших симптомів: погіршення апетиту, спрага тощо), на 4 добу активність даного ферменту була близька до фізіологічних показників і такою залишалась упродовж періоду досліджень, у той час активність АЛТ зростала на 4–6 добу досліджень і залишалася такою упродовж періоду досліджень. Одержані дані узгоджуються з даними інших досліджень (Ranghavendra & Rao, 2000), разом з тим, за даними зарубіжних вчених активність даного ферменту у людей з цукровим діабетом достовірно не відрізнялася від здорових. Такі відмінності, можливо, обумовлені видовими особливостями поліолового шляху обміну глюкози (De Leeuw et al., 1993; Salgado et al., 2000). Установлено, що у кришталиках ока котів спирт сорбітол накопичується інтенсивніше, ніж у собак, однак частота діабетичної катаракти вища саме у собак (Salgado et al., 2000). Вказані відмінності потребують подальших досліджень.

Результати досліджень активності СДГ дають можливість діагностувати патології печінки на доклінічному рівні (Zhang et al., 2015), цінність даного тесту полягає у тому, що фермент належить до органоспецифічних і на відміну від АЛТ, АСТ, ЛФ тощо не потребує додаткових досліджень для диференційної діагностики, наприклад за цукрового діабету зростання

активності АЛТ і АСТ може бути спричинене дистрофічними явищами у м'язах (Rand & Martin, 2001; Hoening, 2012). Певною проблемою у дослідженні СДГ є те, що зростання її активності за патологій печінки є короткочасним, що і підтверджується даними, зображеними на рис. 1. Разом з тим, активність СДГ є цінним клінічним тестом, оскільки поліоловий шлях є важливою складовою у процесах перекисного окиснення за цукрового діабету (Liang-jun, 2018).

### Висновки

Результати досліджень активності ферментів та деяких інших біохімічних показників крові котів за цукрового діабету свідчать, що окрім змін, характерних для даної патології – збільшення концентрації глюкози, фруктозаміну та осмоляльності крові, спостерігається зростання біохімічних маркерів печінкової недостатності – збільшення активності ферментів АЛТ, АСТ, ЛФ та концентрації білірубину.

Активність СДГ у котів з цукровим діабетом була у 2,25 раза вищою за таку у здорових тварин. Активність даного ферменту зростає на початковому періоді розвитку печінкової недостатності, раніше за зміни активності індикаторних ферментів, що може бути використане як цінний діагностичний тест на дожовтушній стадії розвитку патології.

## References

- Darmanin, C. & El-Kabbani, O. (2004). Sorbitol Dehydrogenase: Structure, Function and Ligand Design. *J. Current Medicinal Chemistry*, 11 (4), 465–476. doi: 10.2174/0929867043455927.
- De Leeuw, I. H., Vertommen, J. J. & Rillaerts, E. G. (1993). Erythrocyte Sorbitol Dehydrogenase Activity in Diabetic Patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 20 (1), 51–54. doi: 10.1016/0168-8227(93)90022-W.
- Chala, I. V., Zghozinska, O. A., Rusak, V. S., Chuprun, L. O. & Kovalov, P. V. (2018). Zminy stanu hlutacionovoi systemy krovi kotiv za tsukrovoho diabetu ta ozhyrinnia [Changes in the state of cats' glutathione blood system for diabetes and obesity]. *Naukovyi visnyk LNUVMB im. S. Z. Hzhyskohoiiu. Ser. Veterynarni nauky*, 20 (88), 125–130. doi: 1032718/nvlvet8823 [in Ukrainian].
- Hoenig, M. (2012). The Cat as a Model for Human Obesity and Diabetes. *Journal of Diabetes Science & Technology*, 6 (3), 525–533. doi: 10.1177/193229681200600306.
- Jeffery, J. & Jörnvall, H. (1983). Enzyme Relationship in a Sorbitol Pathway that Bypasses Glycolysis and Pentose Phosphates in Glucose Metabolism. *Proceeding of the United States of America*, 80 (4), 901–905. doi: 10.1073/pnas.80.4.901.
- Karpishchenko, A. I. (Ed.). (2013). *Meditinskiye laboratornyye tekhnologii: rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike* [Medical Laboratory Technology: A Guide to Clinical Laboratory Diagnostics] (3th ed.) (Vol. 2). Moskva : GEOTAR-Media [in Russian].
- Liang-jun, Y. (2018). Redox Imbalance Stress in Diabetes Mellitus: Role of Polyol Pathway. *Journal Animal Models and Experimental Medicine*, 1 (1), 7–13. doi: 10.1002/ame2.12001.
- Marini, I., Bucchioni, L., Borella, P., Del Corso, A. & Mura, U. (1997). Sorbitol Dehydrogenase from Bovine Lens: Purification and Properties. *Journal Archives of Biochemistry and Biophysics*, 340 (2), 383–391. doi: 10.1006/abby.1997.9882.
- Muzumbukilwa, W. T., Kadima, M. G., Nlooto, M. & Owira, P. M. (2019). Mapping the Evidence of Hepatoprotective Properties of Moringa oleifera from sub-Saharan African Countries: a Systematic Review Protocol. *Systematic Reviews*, 8, 197. doi: 10.1186/s13643-019-1117-2.
- Niessen, S. J. M., Hazuchova, K., Powney, S. L., Guitian, J., Niessen, A. P. M., Pion, P.D. ... Church, D. B. (2017). The Big Pet Diabetes Survey: Perceived Frequency and Triggers for Euthanasia. *Veterinary Sciences*, 4 (2), 27. doi: 10.3390/vetsci4020027.
- Raja, M. M. M., Raja A., Imran, M. M., Santha, A. M. I. & Devasena, K. (2011). Enzymes Application in Diagnostic Prospects. *Biotechnology*, 10 (1), 51–59. doi: 10.3923/biotech.2001151.59.
- Rand, J. S. & Martin, G. J. (2001). Management of Feline Diabetes Mellitus. *Journal Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 31 (5), 881–913. doi: 10/1016/S0195-5616(01)50004-2.
- Ranghavendra, D. S. & Rao, S. B. (2000). Studies on some Serum Enzyme levels in Various Liver Disiases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 15 (1), 48–51. doi: 10.1007/BF02873548.
- Salgado, D., Forrer, R. S. & Spiess, B. M. (2000). Activities of NADPH-dependent Reductases and Sorbitol Dehydrogenase in Canine and Feline Lenses. *American Journal of Veterinary Research*, 61 (10), 1322–1324. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.1322.
- Schmid, K., Kruis, B., Endres, W., Lorenz, B. & Shin, Y. S. (1987). Sorbitol Dehydrogenase in Human Lens: Study of the Enzyme in Various Human Tissues. *Pediatric Research*, 22, 237. doi: 10.1203/00006450-198708000-00144.
- Schmidt, R. E., Dorsey, D. A., Beaudet, L. N., Plurad, S. B., Parvin, C. A., Yarasheski, K. E., ... Ido, Y. (2001). Inhibition of Sorbitol Dehydrogenase Exacerbates Autonomic Neuropathy in Rats with Streptozotocin induced Diabetes. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 60 (2), 1153–1169. doi: 10.1093/jnen/60.12.1153.
- Steffgen, J., Kampfer, K., Grupp, C., Langenberg, C., Müller, G. A. & Grunewald, R. W. (2003). Osmoregulation of Aldose Reductase and Sorbitol Dehydrogenase in Cultivated Interstitial Cells of Rat Renal Inner Medulla. *Journal Nephrology Dialysis Transplantation*, 18 (11), 2255–2261. doi: 10.1093/ndt/gfg397.
- Verbrugohe, A. & Bakovic, M. (2013). Peculiarities of One-Carbene Metabolism in the Strict Carnivorous Cat and Role in Feline Hepatic Lipidoses. *Journal of Nutrition*, 5 (7), 2811–2835. doi: 10.3390/nu5072811.
- Zhang, C., Li, X. & Liu, Q. (2015). Sorbitol Dehydrogenase Inhibitor Protects the Liver from Ischemia / Reperfusion – Induced Injury via Elevated Glycolytic Flux and Enhanced Sirtuin 1 Activity. *J. Molecular Medicine Reports*, 11 (1), 283–288. doi: 10.3892/mmr.2014.2715.