

6. Чекман І.С. *Метаболічні препарати в сучасній експериментальній та клінічній фармакології* / І.С. Чекман // *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. статей.-2002.-Вип. 8.- С.11-17.*

7. Kallou A.N. *Gallstones and biliary disease* / A.N. Kallou, S.V. Kantsevov // *Prim. Care.* - 2001. - Vol. 28, №3. - P. 591-606.

8. Zimnoch L. *Study on carcinogenesis in chronic cholecystitis* / L. Zimnoch, B. Szynaka, A. Kupisz // *Rocz. Akad. Med. Bialymst.* - 2004. - Vol. 49 (Suppl.1). - P. 49-51.

Резюме

Гусач В.Ю. *Ефективність комбінації препаратів циклоферону та тіотриазоліну в комплексній терапії сполученої патології біліарного тракту та гіпертонічної хвороби.*

В цій статті приведено обґрунтування використання комбінації препаратів циклоферон та тіотриазолін у комплексній терапії хронічного некалькульозного холециститу в поєднанні із гіпертонічною хворобою у хворих молодого віку.

Ключові слова: хронічний некалькульозний холецистит, гіпертонічна хвороба, лікування, тіотриазолін, циклоферон.

Резюме

Гусач В.Ю. *Эффективность комбинации препаратов циклоферон и тиотриазолин в комплексной терапии сочетанной патологии билиарного тракта и гипертонической болезни.*

В статье описано положительное влияние использования комбинации циклоферона и тиотриазолина в комплексной терапии пациентов молодого возраста с сочетанной патологией билиарного тракта и сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: хронический некалькулезный холецистит, гипертоническая болезнь, лечение, циклоферон, тиотриазолин.

Summary

Gusach V.Yu. *Application of the cyclopheron and tiotriazolin in complex therapy of the biliary tract and hypertension.*

Tiotriazolin and cyclopheron are the drugs which are useeng successfully in the treatment of hypertension associated with chronic acalculus cholecystitis in young people.

Key words: chronic acalculus cholecystitis, hypertension, treatment, tiotriazolin, cyclopheron.

Рецензент: д.мед.н., проф. Ю.Г.Бурмак

ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛІВ ВІНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО НА СИСТЕМУ ГЕНЕРАЦІЇ ОКСИДУ НІТРОГЕНУ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

А.Л. Загайко, Л.М. Воронина, Г.Б. Кравченко,
О.А. Красільнікова, Л.І Катрич

Національний фармацевтичний університет (Харків)
ДП радгосп-завод ім. П. Осипенко (Севастополь)

Вступ

Оксид нітрогену (NO) один з найважливіших сигнальних месенджерів цілого ряду фізіологічних та патологічних процесів. NO утворюється з аргініну під дією Ca-залежного ферменту NO-синтази [9]. Продуктом реакції, також є амінокислота цитрулін. Синтази оксиду нітрогену підрозділяються на конститутивні (cNOS), що включають нейрональну (I тип) і ендотеліальну (II тип), і індукцибельну (iNOS). Оксид нітрогену продукується різними типами клітин організму, має вільнорадикальні властивості і контролює багато біохімічних процесів і функцій. У нормальній ендотелії постійно вивільнюється мала кількість NO для підтримання кровоносних судин у стані дилатації та забезпечення неадгезивності по відношенню до формених елементів крові. При дії різних факторів здатність утворювати та секретувати фактори релаксації зменшується, тоді, як здатність до утворення речовин, які звужують судини, зберігається або навіть збільшується, тобто формується стан, який називають ендотеліальною дисфункцією [2].

Порушення обміну NO розглядається як одна з причин виникнення цукрового діабету 1 типу (ЦД1) [4]. Причиною подібних порушень може бути несприятлива екологічна обстановка, що сприяє надходженню до організму NO, нітритів, нітратів і різних N-нітрозосполук, а також умовами, при яких підсилюється утворення NO в організмі [12]. У цьому випадку NO має виражену вибірковість у відношенні β-клітин підшлун-

кової залози і реалізується через токсичні форми оксиду нітрогену. Дуже суперечливі дані літератури щодо рівню NO в крові при ЦД2. Shein та співавтори [6] виявили підвищення активності NO-синтази в ендотеліоцитах у хворих на цукровий діабет 2-го типу (ЦД2), тоді, як інші автори говорять про пригнічення синтезу NO при розвитку ЦД2 [16].

Традиційна терапія цукрового діабету базується на застосуванні цукрознижувальних препаратів і інсуліну. У той же час, надходження ксенобіотиків до організму людини є могутнім активатором процесів мікросомального, а, отже, і вільнорадикального окиснення, які в цей час розглядаються як можливі причини ЦД [4]. Однак останнім часом росте інтерес до пошуку речовин природного, особливо рослинного походження. Згідно даних літератури, флавоноїди можна використовувати при лікуванні ЦД1 та ЦД2 типів, так кверцетин і епікатехін запобігають загибелі клітин, блокуючи утворення оксиду нітрогену, індукованого стрептозотоцином, а також шляхом інгібування експресії генів iNOS, таким чином знижується рівень NO [7]. Окремі компоненти поліфенольних концентратів, а саме ціанідин-3-О-глікозид, дельфінідин-3-О-глікозид, кверцетин збільшують експресію ендотеліальної NOS, утворення NO і його вивільнення з ендотеліоцитів [5]. Цей процес опосередкований активацією Akt-опосередкованого сигнального шляху. Поліфенольні сполуки в значній кількості містяться у всіх органах виноградної лози: плід (шкірка, насіння, сік), а також в стеблі та гребні [8]. Біля 70% флавоноїдів з насіння винограду знаходиться у вигляді полімерів, які мають більш високу біологічну активність.

Тому, метою цього дослідження було вивчення дії екстрактів з плодів (ЕП) та насіння (ЕН) Винограду культурного на систему генерації оксиду нітрогену в умовах експериментального ЦД1 та ЦД2.

Зв'язок з науково-дослідними програмами, планами, темами. Роботу виконано в Національному фармацевтичному університеті в рамках розділу 1.7 "Вивчення дії та фармакологічної активності біологічно активних речовин природного походження та механізмів розвитку патологій, при яких доціль-

не застосування цих біологічно активних речовин" науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету з проблеми МОЗ України "Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин та лікарських засобів синтетичного та рослинного походження та їх застосування в медичній практиці" (№ державної реєстрації 0103U000478)

Матеріали та методи дослідження

Досліди проводили на щурах лінії Wistar, масою 140-200 г, що утримувалися на стандартному раціоні віварію. ЦД1 у тварин викликали шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення розчину стрептозотоцину ("Sigma", США) у дозі 55 мг/кг маси тіла [14]. Діагноз діабет був поставлений після того, як рівень глюкози в сироватці крові, узятій натще, був більше 14 ммоль/л. ЦД2 моделювали утриманням тварин на дієті з високим рівнем фруктози (60 г/100 г дієти) протягом 60 днів [7]. Поліфенольні екстракти вводили внутрішньошлунково. Доза фенольних сполук була розрахована на основі даних літератури і складала 5 мл/кг маси [8]. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину.

Усі маніпуляції з тваринами проводили під хлоразоло-уретановим наркозом. Дослідження проводилися відповідно до національних "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей" (Страсбург, 1985). Після цього щури були розподілені на 9 груп по 6 щурів: 1-я група - інтактні тварини; 2-я група - тварини, яким вводили ЕП протягом 15 днів; 3-я група - тварини, яким вводили ЕС протягом 15 днів; 4-я група - тварини з ЦД1; 5-я група - тварини з ЦД1, які через 30 днів протягом 15 днів отримували ЕП; 6-я група - тварини з ЦД1, які через 30 днів протягом 15 днів отримували ЕС; 7-я група - тварини з ЦД2; 8-я група - тварини з ЦД2, які з 45 дня протягом 15 днів одержували ЕП; 9-я група тварини з ЦД2, які з 45 дня протягом 15 днів одержували ЕС.

Вміст аргініну і цитруліну визначали фотометричними методами з використанням тест-наборів фірми "Felicit" (Україна).

Для оцінки рівня ендogenous NO визначали вміст нітритів у сироватці за допомогою реактиву Грисса [6]. Статистичну обробку даних проводили з використанням варіаційної статистики (ANOVA). $P < 0,05$ - статистично достовірні розходження.

Отримані результати та їх обговорення

У тварин з ЦД1 у периферичній крові знижувався вміст NO і цитруліну, а рівень аргініну - збільшувався (рис. 1-3). Застосування поліфенольних концентратів вірогідно знижувало рівень NO і нормалізувало вміст аргініну (рис. 1, 2).

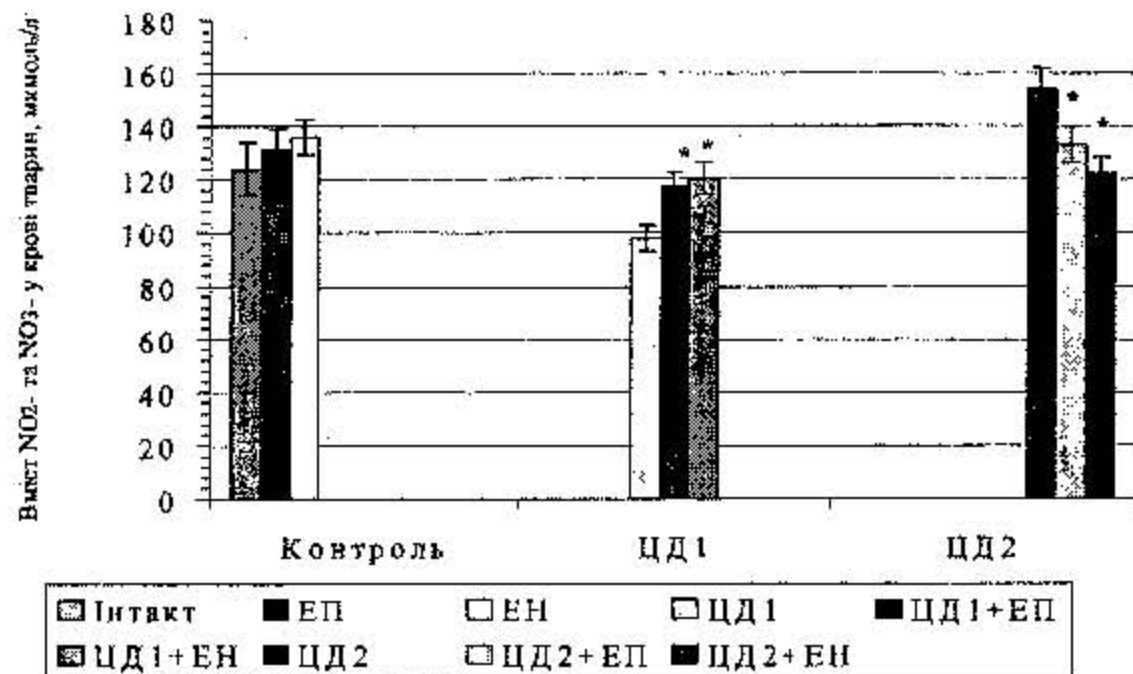


Рисунок 1. Вплив поліфенолів з Винограду культурного на вміст нітратів+нітритів у крові тварин з ЦД (ммоль/л, $M \pm m$, $n=7$); * - зміни достовірні, $p < 0,05$ порівняно з тваринами з ЦД.

При цьому найбільшу ефективність у відношенні NO, аргініну і другого продукту NO-синтазної реакції виявляв поліфенольний комплекс з насіння Винограду культурного.

Підвищення концентрації глюкози в крові й у клітинах різних тканин (ендотелій судин, нейрони) при цукровому діабеті стає причиною постійного утворення вільних радикалів, що ушкоджують ліпідні і білкові компоненти клітин, сприяють утворенню і накопиченню ліпоперекисних сполук, що підсилюють процеси дестабілізації клітинних мембран [1]. При цьому знижується антиоксидантний захист клітин, що забезпечує сталість антира-

дикального й антиперекисного гомеостазу. У мітохондріях порушується функціонування циклу трикарбонних кислот, відбувається часткове роз'єднання окиснення і фосфорилування.

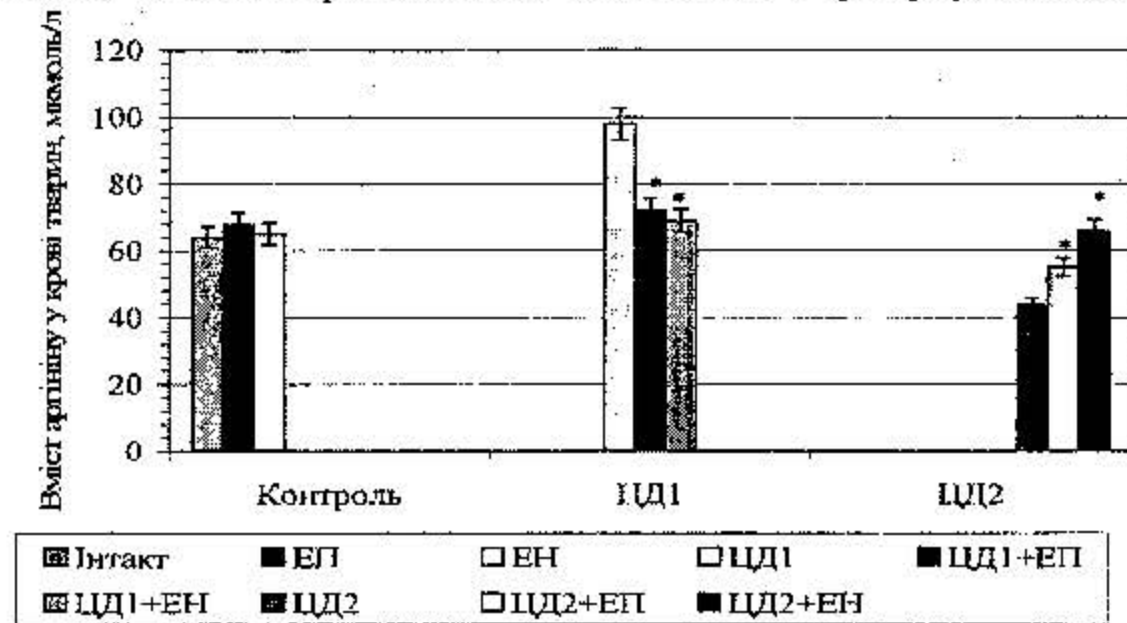


Рисунок 2. Вплив поліфенолів з Винограду культурного на вміст аргініну в крові тварин з ЦД (ммоль/л, $M \pm m$, $n=7$); * - зміни достовірні, $p < 0,05$ порівняно з тваринами з ЦД.

Активация процесів вільнорадикального окиснення може призводити до зниження вмісту тетрагідробіоптерину - кофериенту NO-синтази, що бере участь у взаємодії цього ферменту із субстратом і, як наслідок, зниженням спорідненості ферменту до свого субстрату - аргініну [3].

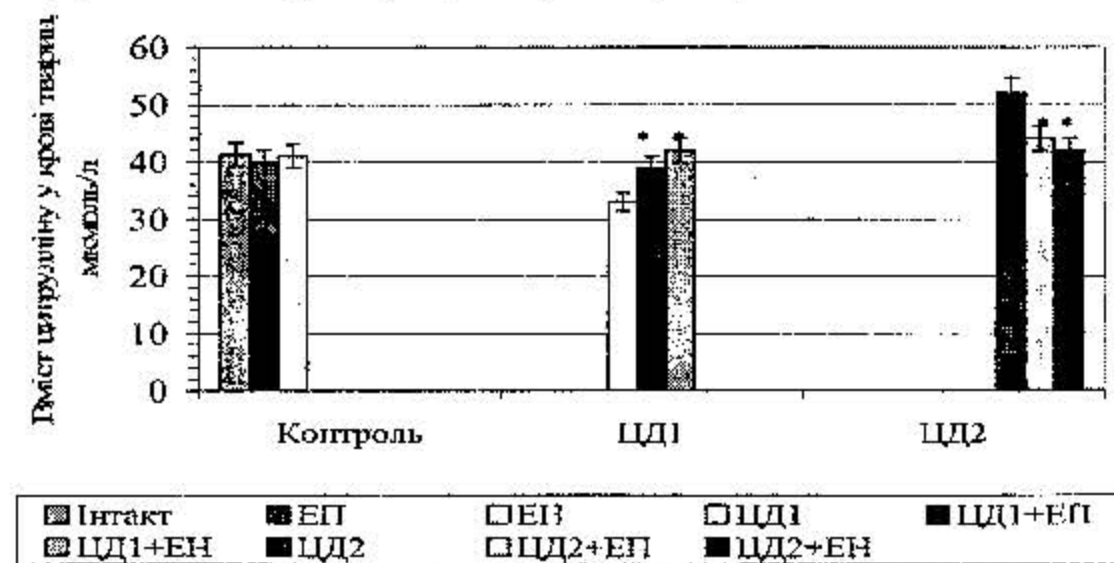


Рисунок 3. Вплив поліфенолів з Винограду культурного на вміст цитруліну в крові тварин з ЦД (ммоль/л, $M \pm m$, $n=7$); * - зміни достовірні, $p < 0,05$ порівняно з тваринами з ЦД.

Збільшення вмісту аргініну в сироватці крові, що спостерігається в наших умовах, та супроводжується зниженням вмісту NO, може бути обумовлено цією причиною, а також зниженням транспорту аргініну в клітки, що має місце за умов ЦД1 [17]. Нормалізація рівню NO, аргініну і цитруліну в сироватці крові щурів після застосування поліфенольних концентратів, очевидно, обумовлена їх високою антиоксидантною активністю.

У щурів, що утримувалися на фруктозній дієті, спостерігалося збільшення вмісту NO і цитруліну в крові, при цьому вміст аргініну значно знижувався (рис. 1-3). Введення поліфенольних концентратів нормалізувало названі вище показники. При цьому у відношенні NO-синтазної системи велику активність виявляв концентрат з насіння винограду культурного.

За умов експериментального ЦД2 спостерігалося одночасне збільшення вмісту інсуліну і глюкози в крові тварин (дані не наведені). Інсулін є могутнім індуктором eNOS, активує надходження аргініну до клітин, таким чином, стимулює утворення NO [17]. Високий рівень глюкози також збільшує утворення NO шляхом активації експресії iNOS, а також утворення активних форм кисню [12, 15]. Одночасне зростання рівня цих сполук призводить до утворення ONOO-, що супроводжується розвитком ендотеліальної дисфункції. Значне підвищення рівня NO також стимулює експресію циклооксигенази ЦОГ-2. ЦОГ-2 каталізує утворення тромбоксану A2 (TXA2), антагоніста NO, могутнього вазоконстриктора [14]. Полімерні проціанідини, вміст яких більш значний в досліджених концентратах з насіння, пригнічують утворення NOS шляхом гальмування синтезу специфічних мРНК iNOS у макрофагах [13]. При цьому ефект проціанідинів, що спостерігався, залежав від ступеню полімеризації молекул. Кверцетин і бузкова кислота також знижують активність ЦОГ-2 і експресію iNOS макрофагами в умовах експериментального ЦД2 [11].

Висновки

1. Поліфенольні концентрати з насіння та плодів винограду підвищують вміст нітратів та нітритів на моделі ЦД1.
2. Поліфенольні концентрати з насіння та плодів винограду знижують вміст нітратів та нітритів на моделі ЦД2.

3. Поліфенольний концентрат з насіння винограду проявив більш виражену дію на систему генерації оксиду нітрогену на моделі ЦД1 и ЦД2.

Література

1. Воробьева Е. Н. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе болезней системы кровообращения. / Е. Н. Воробьева, Р. И. Воробьев // Бюллетень СО РАМН. - 2005. - Т. 118, № 4. - С. 24-30.
2. Петухов В.А. Эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса / В. А. Петухов // Хирургия. - 2008. - № 1. - С. 3-11.
3. Correction of endothelial dysfunction in diabetic female rats by tetrahydrobiopterin and chronic insulin / E. H. Akamine, E. M. Kawamoto, C. Scavone [et al.] // J. Vasc. Res. - 2006. - Vol. 43, N4. - P. 309-320.
4. Cyclooxygenase-2 inhibitory and antioxidant compounds from the truffle *Elaphomyces granulatus* / R. Stanikunaite, S. I. Khan, J. M. Trappe [et al.] // Phytother. Res. - 2009. - Vol. 23, № 4. - P.575-578.
5. Diabetes, oxidative stress, nitric oxide and mitochondria function / M. Friederich, P. Hansell, F. Palm // Curr.Diabetes.Rev. - 2009. - Vol. 5, № 2. - P.120-144.
6. Effect of proanthocyanidins on COX-2 enzyme activity and COX-2 mRNA protein expression in LPS-induced RAW264.7 cells / M. J. Chen, T. Liang, K.Y. Zhou [et al.] // Yao Xue Xue Bao. - 2005. - Vol. 40, № 5. - P. 406-409.
7. Increased plasma concentration of nitric oxide in type 2 diabetes but not in nondiabetic individuals with insulin resistance / W. Y. Chein, K. D. Yang, H. L. Eng [et al.] // Diabetes Metab. - 2005. - Vol. 31, № 1. - P. 63-68.
8. Insulin mediated nitric oxide production is impaired in insulin resistance / H. O. Steinberg, E. Cressman, Y. Wu [et al.] // Diabetes. - 1997. - Vol. 46. - P. 24A.
9. Kannappan S. Insulin sensitizing actions of fenugreek seed polyphenols, quercetin & metformin in a rat model / S.

Kannappan, C. V. Anuradha // *Indian J. Med. Res.* - 2009. - Vol. 129. - P. 4401-4408.

10. Nicorandil improves diabetes and rat islets β -cell damage induced by streptozotocin in vivo and in vitro / K. Kasono, T. Yasu, A. Kakehashi [et al.] // *Europ. J. Endocrinol.* - 2004. - Vol. 151. - P. 277-285.

11. Nitric oxide in the cardiovascular system: a simple molecule with complex actions / H. Strijdom, N. Chamane, A. Lochner [et al.] // *Cardiovasc. J. Afr.* - 2009. - Vol. 20, №5. - P. 303-310.

12. NO-mediated cytotoxicity contributes to multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes but not to NOD diabetes / H. Yasuda, Z. Jin, M. Nakayama [et al.] // *Diabetes. Res. Clin. Pract.* - 2009. - Vol. 83, № 2. - P. 200-207.

13. Nozdrachev A. D. Liver glucose-6-phosphatase activity and blood fatty acid level in rats with insulin-induced hypoglycemia / A. D. Nozdrachev, P. K. Telushkin // *Dokl. Biol. Sci.* - 2008. - Vol. 422. - P. 294-295.

14. Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications / W. Wei, Q. Liu, Y. Tan [et al.] // *Hemoglobin.* - 2009. - Vol. 33, № 5. - P. 370-377.

15. Protective effects of epicatechin against the toxic effects of streptozotocin on rat pancreatic islets: in vivo and in vitro / M. J. Kim, G. R. Ryu, J. S. Chung [et al.] // *Pancreas.* - 2003. - Vol. 26, № 3. - P. 292-299.

16. Red wine polyphenols-induced, endothelium-dependent NO-mediated relaxation is due to the redox-sensitive PI3-kinase/Akt-dependent phosphorylation of endothelial NOSynthase in the isolated porcine coronary artery / M. Ndiaye, M. Chataigneau, I. Lobysheva [et al.] // *The FASEB Journal.* - 2004. - express article 10.1096/fj.04-2146fje.

17. Sobrevia L. A role for insulin on L-arginine transport in fetal endothelial dysfunction in hyperglycemia / L. Sobrevia, M. Gonzalez // *Curr. Vasc. Pharmacol.* - 2009. - Vol. 7, № 4. - P. 467-474.

Резюме

Загайко А.Л., Воронина Л.М., Кравченко Г.Б., Красильнікова О.А., Катрич Л.І. Вплив поліфенолів винограду культурного на систему генерації оксиду нітрогену при цукровому діабеті.

В роботі вивчали особливості впливу поліфенольних концентратів з плодів та насіння Винограду культурного на систему генерації оксиду нітрогену (NO) при експериментальному цукровому діабеті 1 та 2 типів. Систему генерації оксиду нітрогену оцінювали за рівнем NO, аргініну та цитруліну. Було встановлено, що поліфенольні концентрати нормалізують роботу системи генерації NO, яка порушується при цукровому діабеті. При цьому більшу ефективність виявив концентрат з насіння винограду.

Ключові слова: цукровий діабет, оксид нітрогену, аргінін, цитрулін, біофлавоноїди.

Резюме

Загайко А.Л., Воронина Л.Н., Кравченко А.Б., Красильнікова О.А., Катрич Л.І. Влияние полифенолов винограда культурного на систему генерации оксида азота при сахарном диабете.

В работе изучали особенности действия полифенольных концентратов из плодов и семян Винограда культурного на систему генерации оксида азота (NO) при экспериментальном сахарном диабете 1 та 2 типов. Систему генерации оксида азота оценивали по содержанию NO, аргинина и цитрулина. Было установлено, что полифенольные концентраты нормализуют работу системы генерации NO, которая нарушается при сахарном диабете. При этом большую эффективность показал концентрат из семян винограда.

Ключевые слова: сахарный диабет, оксид азота, аргинин, цитрулин, биофлавоноиды.

Summary

Zagaiko A.L., Voronina L.M., Kravchenko G.B., Krasilnikova O.A., Katrych L.I. Influence of grape polyphenols on nitric oxide generation system under diabetes mellitus.

This research is devoted to study the influence of polyphenol concentrates extracted from *Vitis vinifera* grapes and seeds on nitric oxide (NO) generation system under experimental diabetes mellitus of I and II types. Nitric oxide generation system was estimated by the level of NO, arginine and citrulline. It was determined that polyphenol concentrates normalize the work of NO generation system, which is disturbed under diabetes mellitus. Herewith concentrate from grape seeds showed the best effectiveness.

Key words: diabetes mellitus, nitric oxide, arginine, citrulline, bioflavonoids.

Рецензенти: д.мед.н., проф.Л.В.Савченкова
д.мед.н., проф.Т.П.Гарник