

ВПЛИВ РЕКСОД НА СТАН ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ АБСОЛЮТНОЇ ІНСУЛІНОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Л.В. Деримедвідь, І.П. Бухтіарова

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків
Донецький національний медичний університет
ім. М. Горького*

Вступ

Однією з актуальних проблем сучасної ендокринології є проблема адекватної корекції цукрового діабету (ЦД) та його ускладнень [1, 10, 16]. Тривалість життя хворого ЦД та його працездатність визначають, у першу чергу, діабетичні мікро- і макроангіопатії: нефропатія, ретинопатія, гангрена, інфаркт міокарда, інсульт. Важливу роль в патогенезі судинних ускладнень ЦД відіграють такі фактори, як гіперглікемія та її наслідки (формування продуктів прискореного глікозилювання, оксидативний стрес та внутрішньоклітинне накопичення сорбітолу), гіпертензія, дисліпідемія та реологічні порушення [1, 3, 10, 14]. Діабетична мікроангіопатія стає причиною розвитку ретино- та нейропатії [1, 10].

Одним із механізмів розвитку ангіопатичних розладів при цукровому діабеті є надмірна активація процесів вільнорадикального окислення (ВРО) з розвитком оксидативного стресу (ОС), який являє собою універсальний механізм, причетний до основних біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією. При цьому пусковим моментом є зростання продукції вільних радикалів на мітохондріальному рівні внаслідок посиленого внутрішньоклітинного метаболізму глюкози [8, 13]. В даний час цей процес розглядають у якості універсального механізму, що об'єднує основні біохімічні шляхи токсичного впливу гіперглікемії на судини [1-3, 5, 10-11, 14-16]. Індукований гіперглікемією оксидативний стрес спричиняє ендотеліальні дисфункції, активацію тромбоцитів та моноцитів, проліферацію гладко-м'язових воло-

кон, що призводить до розвитку діабетичних ангіопатій [8, 15]. Також відомо, що активність антиоксидантних ферментів за умов хронічної гіперглікемії може знижуватися внаслідок їх неферментативного глікозилювання [1, 3, 5, 6, 8, 10, 13, 19].

Для запобігання ВРО-обумовлених пошкоджень при цукровому діабеті виправданим є використання лікарських препаратів, здатних коригувати розвиток цукрового діабету шляхом послаблення токсичної дії вільних радикалів кисню і зменшувати інтенсивність і виразність реакцій ВРО. Тому в комплексну фармакотерапію цих станів включають антиоксиданти [1-5, 7, 10-11, 15].

На сучасному фармацевтичному ринку вони займають одне з основних місць як коректори ВРО. Призначення антиоксидантної терапії при ЦД може переслідувати три мети: зменшення явищ оксидативного стресу, попередження / зменшення інсулінорезистентності та ускладнень ЦД [1-5, 7, 8, 10-11, 15].

Головна роль у захисті клітин від активних форм кисню, що призводять до ВРО, відводиться ферменту-антиоксиданту - супероксиддисмутазі (СОД), яка перетворює супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\bullet-}$) в менш реакційно-спроможний перекис водню. СОД є єдиним серед відомих антиоксидантних ферментів, що безпосередньо забезпечують обрив вільнорадикальних реакцій у клітках аеробних організмів на так званій "нульовій" стадії ВРО [4, 5, 11, 15].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана згідно плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету з проблем Міністерства охорони здоров'я України на тему: "Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці" (№ державної реєстрації 0103U000478).

Метою даної роботи було дослідження впливу препарату рекомбінантної супероксиддисмутазі рексод, отриманої методом генної інженерії з культури штаму дріжджів - продуцентів *Sacharomycoccus cerevisiae Y-2134* на стан вуглеводного та ліпідного обміну за умов абсолютної інсулінової недостатності у кролів, викликаних введенням дитизону.

Матеріали та методи дослідження

Для відтворення абсолютної інсулінової недостатності використовували модель дитизонового діабету (ДД) шляхом внутрішньовенного одноразового введення дитизону в дозі 35 мг/кг маси тіла самцям кролів вагою 2,3-2,7 кг породи "Шиншила" [2, 9]. До груп тварин з ЦД були включені кролі, у яких базальна глікемія перевищувала 14 ммоль/л. Рексод водили кролям з діабетом внутрішньом'язово у дозі 65 мкг/кг двічі на добу протягом 2 місяців. Токоферола ацетат (препарат порівняння за антиокислювальною дією) вводили у дозі 50 мг/кг внутрішньом'язово в аналогічному режимі. Контрольна група тварин отримувала за аналогічною схемою плацебо (фізіологічний розчин).

Стан глюкозного гомеостазу оцінювали за показниками базальної глікемії. Одним із факторів пошкоджуючої дії гіперглікемії на судини є неферментативне глікозилювання білків, маркерами якого є глікозилюваний гемоглобін HbA_{1c} та продукт Амароді (фруктозолізін) [2, 3, 9]. Концентрацію фруктозаміну визначали в присутності нітросинього тетразолу на СФ-26 при $\lambda=530$ нм [9]. Рівень глікозилюваного гемоглобіна (HbA_{1c}) в крові визначали за реакцією з ТБК на СФ-26 при $\lambda=443$ нм. $\% HbA_{1c} = E_{443}/0,029$, де 0,029 - показник оптичної густини, що відповідає за 1% вмісту HbA_{1c} . У сироватці крові визначали вміст маркерів гіперліпідемії: холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ), холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХС ЛПНЩ), холестерину ліпопротеїнів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ) та тригліцеридів за допомогою ферментативних наборів фірми "Берінгер" (Австрія) [6, 9].

Параоксоназа - фермент плазми крові людини, асоційована із фракцією ліпопротеїдів високої щільності. Параоксоназа відіграє важливу роль у запобіганні окислюванню ліпопротеїдів низької щільності й, таким чином, гальмує розвиток атеросклерозу. Рівень параоксонази визначали за методом [12]. Весь отриманий цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики з застосуванням параметричних та непараметричних критеріїв [9].

Отримані результати та їх обговорення

Результати дослідів наведено у табл. 1 та на рис. 1-4. У результаті проведеного експерименту встановлено, що у кролів, які одер-

жували плацебо, протягом 2 місяців після індукції діабету зберігалася виразна базальна гіперглікемія (понад 20 ммоль/л) (рис. 1).

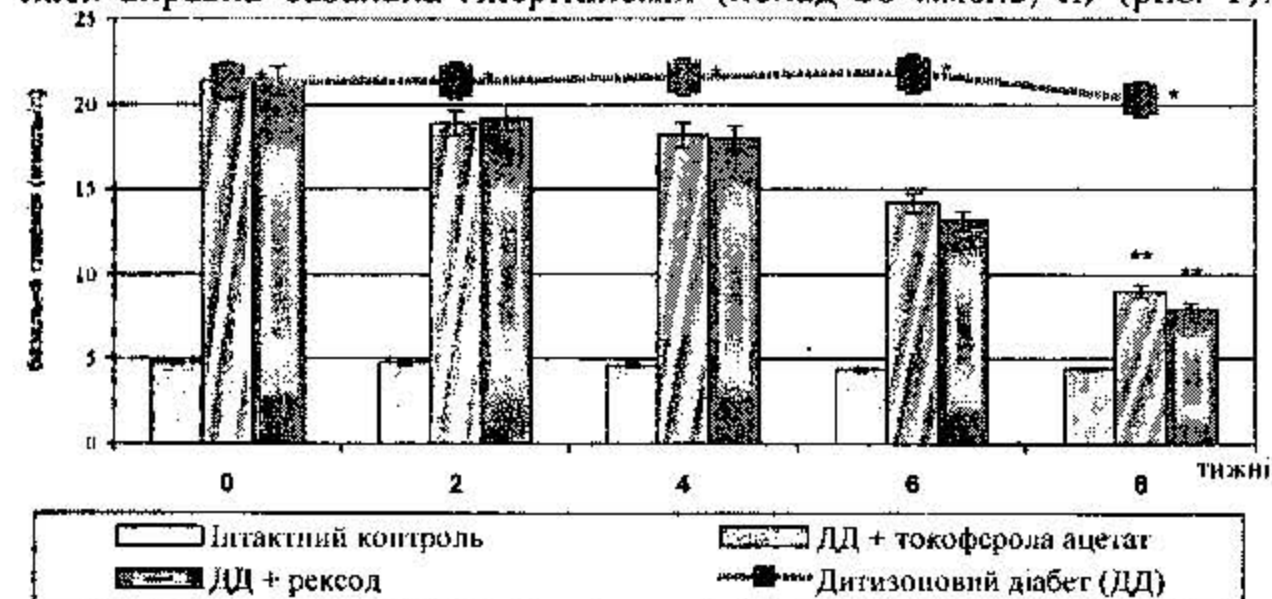


Рис. 1. Зміни рівня базальної глікемії у кролів з абсолютною інсуліновою недостатністю, викликаною введенням дитизону (ДД) при застосуванні рексод та α -токоферола ацетата (* - $p < 0,05$ вірогідно у порівнянні з інтактними тваринами; ** - $p < 0,05$ вірогідно у порівнянні з контрольними тваринами з ДД).

Встановлено, що корегуючий вплив рексод та α -токоферолу ацетату починався з 6 тижня дослідів і досягав максимуму через 8 тижнів (рис.1). При цьому, рівень глікемії порівняно з нелікованим контролем з ДД знизився при застосуванні α -токоферолу ацетату в 2,25 рази а при введенні рексод - у 2,5 раз відповідно.

Виявлений позитивний ефект рексод на глюкозний гомеостаз у діабетичних тварин співпадає з експериментальними даними про поліпшення глікемічного контролю при введенні вітаміну Е [5], а також результатами інших досліджень, в яких спостерігали зниження гіперглікемії і інсулінорезистентності при хронічному застосуванні вітамінів Е та С у хворих на цукровий діабет 2 типу [2, 3, 8, 15].

Одним із факторів пошкоджуючої дії гіперглікемії на судини є процес неферментативного глікозилювання білків, маркерами якого є глікозилюваний гемоглобін HbA_{1c} та фруктозамін [3]. Встановлено, що при ДД рівень HbA_{1c} зріс в 2,5 раз, а фруктозолізін збільшився в 4 рази. При застосуванні рексод рівень HbA_{1c} зменшився в 1,9 раз; α -токоферолу ацетату -

в 1,5 рази. Рівень фруктозолізину на тлі використання рексод зменшився в 2,3 рази, при використанні α -токоферолу ацетату - в 1,65 рази (рис. 2).

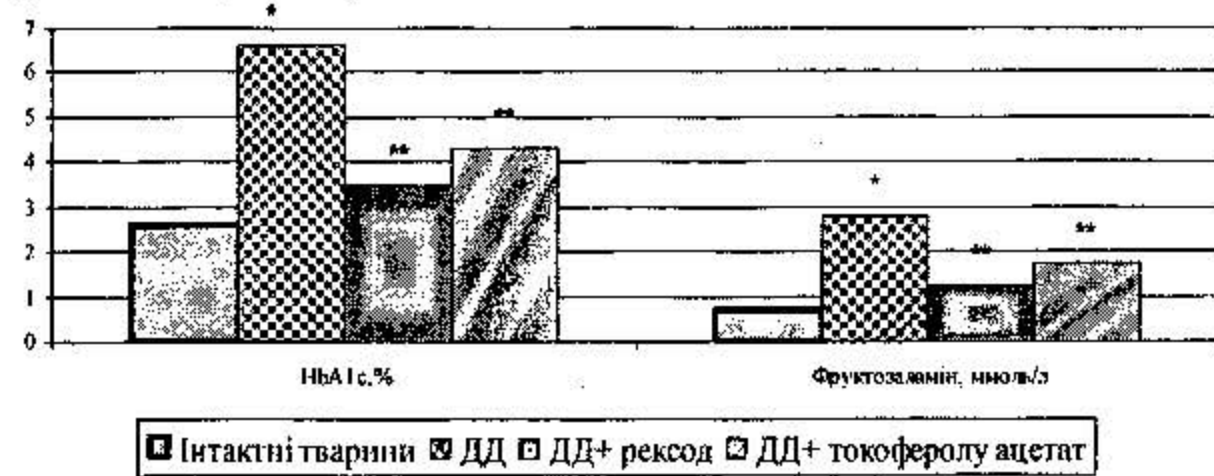


Рис. 2. Вплив рексод на показники неферментативного глікозилювання при дитизоновому діабеті у кролів (* $p < 0,05$ вірогідно у порівнянні з інтактними тваринами; ** $p < 0,05$ вірогідно у порівнянні з контрольними тваринами з ДД).

Таким чином отримані дані свідчать про зменшення інтенсивності процесів неферментативного глікозилювання при використанні антиоксидантів.

У зв'язку з тим, що в літературі є данні про наявність прямої залежності між інтенсивністю процесів ВРО та змінами ліпідного обміну при ЦД [2, 3, 10], представляло доцільним вивчення впливу рексод на ліпідний і ліпопротеїний спектр крові та активність параоксонази при ДД. Дослідження проводили на початку досліду, через 1 та 2 місяці. Результати вивчення впливу рексод на показники ліпідного обміну в сироватці крові кролів з індукованим ДД наведені у таблиці.

Як видно з таблиці, вже через 4 тижні після введення дитизону, виявлені зміни в показниках ліпідного складу крові. Так, на фоні збільшення вмісту загального холестерину в 1,27 рази, відзначається приріст рівня ліпопротеїдів низької щільності в 1,7 рази ($p < 0,05$) у порівнянні з вихідним рівнем. Через 8 тижнів у цій же групі тварин спостерігалось достовірне збільшення не тільки загального холестерину в 1,9 рази, але і ТГ у 1,4 рази, атерогених ліпопротеїдів низькою і дуже низь-

кою щільності в 2 рази і 1,5 рази, відповідно, та зменшення рівню ліпопротеїдів високою щільності в 1,3 рази, що зв'язано з порушенням ліпідного обміну в умовах ЦД.

Аналогічно зменшувалась і активність ЛПВГ- зв'язаного антиоксидантного ферменту- параоксонази. Так, через 4 тижні досліду активність параоксонази зменшилась в 2 рази, а через 8 тижнів - у 2,3 рази, відповідно (рис. 3).

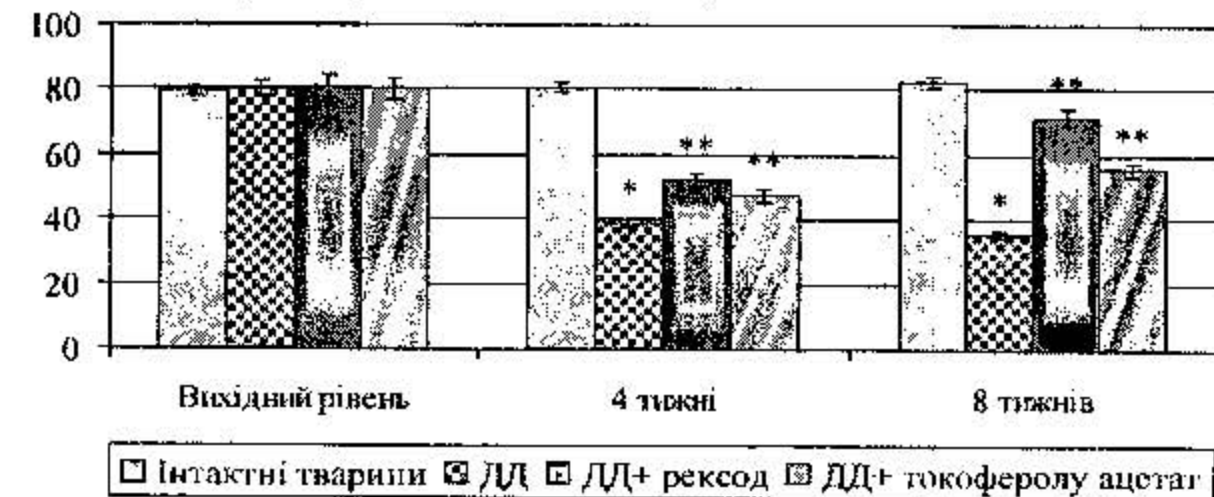


Рис. 3. Активність параоксонази (Од/л) у тварин з ДД при застосуванні рексод та α -токоферолу ацетату (* $p < 0,05$ вірогідно у порівнянні з інтактними тваринами; ** $p < 0,05$ вірогідно у порівнянні з контрольними тваринами з ДД).

Через 1 місяць експерименту на тлі застосування рексод спостерігалось зниження рівню загального холестерину і ЛПНЩ в 1,2 рази; рівень ЛПВЩ збільшився в 1,3 рази; інші показники ліпідного обміну змінювались не вірогідно (табл.). Що стосується змін фракцій ліпопротеїдів на 2-й місяць досліду, то тут спостерігалось зменшення загального холестерину та ЛПНЩ в 1,3 рази; ЛПДНЩ в 1,6 рази, у той час як показники ліпопротеїдів високої щільності відповідали рівню інтактних тварин (табл.). Активність параоксонази на тлі введення рексод на 4 тижень досліду збільшилась в 1,3 рази та на 8 тижень - в 2 рази, відповідно (рис 3).

Застосування α -токоферолу ацетату також привело до покращення ліпідного гомеостазу у кролів з цукровим діабетом. Через 1 місяць експерименту на тлі застосування α -токоферолу ацетату спостерігалось виразна тенденція до зниження рівню

загального холестерину та ЛПНЩ. На 2-й місяць дослідження спостерігалось зменшення загального холестерину та ЛПНЩ в 1,2 рази; ЛПДНЩ в 1,3 рази та збільшення рівню ЛПВЩ в 1,4 рази. Активність параоксонази на тлі введення α -токоферолу ацетату на 4 тиждень дослідження збільшилась в 1,2 рази та на 8 тиждень - в 1,6 раз, відповідно. В середньому, ефективність α -токоферолу ацетату за впливом на цей показник була на 22% нижче, ніж рексод.

Таким чином, рексод та α -токоферолу ацетат проявляли в експерименті помірну гіполіпідемічну дію та нормалізували порушення метаболізму ліпопротеїдів, індуковане введенням дитизону. Зважаючи на те, що в умовах надлишку продуктів ВРО ліпопротеїди можуть піддаватися ліпоперекисній модифікації (це є одним із чинників розвитку атеросклерозу), покращення показників ліпідного обміну та зростання активності параоксонази свідчить про доцільність використання рексод для профілактики макроангіопатій при ЦД.

Висновки

1. Встановлено, що застосування рексод та α -токоферолу ацетату в умовах експериментальної абсолютної інсулінової недостатності призводить до покращення показників вуглеводного обміну та зменшує інтенсивність процесів неферментативного глікозилювання.

2. Антиоксиданти рексод та α -токоферолу ацетат чинять помірний антиатерогенний ефект у кролів із абсолютною інсуліновою недостатністю, поліпшуючи глюкозний гомеостаз, знижуючи концентрацію НЕЖК, ЛПНЩ, ЛПДНЩ та підвищуючи рівень ЛПВЩ та активність параоксонази в сироватці крові, що сприяє зменшенню окислювальної модифікації ліпопротеїдів.

3. За антиоксидантною активністю ефективність застосування рексод при ЦД у середньому на 22% вище ніж застосування α -токоферолу ацетату.

4. Подальше вивчення впливу рексод на процеси ВРО, ліпідного та глюкозного гомеостазу дозволить знайти нові шляхи антиоксидантного захисту хворих на ЦД та значно підвищити ефективність лікування та профілактики ЦД.

Література

1. Балаболкин М.И. *Діабетологія* / М.И. Балаболкин. - М.: Медицина, 2002. - С. 554-555.
2. Влияние витамина Е на развитие нефропатии у кроликов с дитизиновым диабетом / В.В.Полтораки, Н.И.Горбенко, А.И. Гладких [та ін.] // *Проблеми ендокринології*. - 2000. - Т. 46, № 6. - С. 41-44.
3. Горбенко Н.И. Молекулярные механизмы развития диабетических микроангиопатий и их фармакологическая коррекция / Н.И. Горбенко // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. - 2000. - № 1. - С.17-23.
4. Горчакова Н.О. Антиоксидантні засоби - необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Н.О. Горчакова, С.А., Олійник, К.Г. Гаркава // *Фітотерапія в Україні*. - 2000. - №1. - С.7-13.
5. Деримедвідь Л.В. Ефективність використання рекомбінантної супероксиддисмутази при цукровому діабеті / Л.В.Деримедвідь, І.П. Бухтіарова, С.М. Дрововоз // *Клінічна фармація*. - 2007. - № 1. - С. 42-45.
6. Камышников В.С. *Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х т.* / В.С. Камышников. - Минск: Беларусь, 2000.- Т.1. - 495 с.; Т.2.- 463 с.
7. Оковитый С.В. *Клиническая фармакология антиоксидантов* / С.В. Оковитый // *ФАРМиндекс-Практик*. - 2003. - Вып. 5. - С. 85-111.
8. Приступнюк О.М. Оксидантний стрес за наявності цукрового діабету / О.М. Приступнюк // *Український медичний часопис*. - 2002. - № 3. - С.23-25.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О.В. Стефанов, Н.В. Літвінова, М.А. Філоненко-Патрушева [та ін.] - Київ : Авіценна, 2001. - 528 с.
10. Тронько Н.Д. *Современные проблемы диабетологии* / Н.Д. Тронько // *Журнал АМН України*. - 2000. - Т. 6, № 3. - С. 460-471.
11. Bast A. *Oxidants and antioxidants: State of the art* / A.Bast, G.Haenen, C.Doelman // *Am. J.Med.* - 1991. - № 3. - P. 2S-13S.

12. Eckerson, H.W. *The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism* / H.W. Eckerson, C.M. Wyte, N. la du Bert // *American Journal of Human Genetics*. - 1983. - Vol. 35(6). - P. 1126-38

13. Nishikawa T. *The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications* / T. Nishikawa, D. Edelstein, M. Brownlee // *Kidney Int*. - 2000. - Vol. 58, Suppl. 77. - P. S26-S30.

14. Okamoto H. *Regulation of proinsulin synthesis in pancreatic islets and a new aspect to insulin-dependent diabetes* / H. Okamoto // *Mol. Cell Biochem*. - 1981. - Vol. 3. - P. 43-61.

15. West I.C. *Radicals and oxidative stress in diabetes* / I.C. West // *Diabetic Med*. - 2000. - Vol. 17, № 2. - P. 171-180.

16. Zimmet P. *Global and societal implications of the diabetic epidemic* / P. Zimmet, K.G.M.M. Alberty, J. Shaw // *Nature*. - 2001. - Vol. 414. - P. 782-787.

Резюме

Деримедвідь Л.В., Бухтіярова І.П. Вплив рексод на стан ліпідного обміну в умовах експериментальної абсолютної інсулінової недостатності.

Стаття присвячена фармакологічному обґрунтуванню доцільності застосування антиоксидантів природного походження в умовах абсолютної інсулінової недостатності, викликаній введенням дитизону.

Встановлено, що при застосуванні рексод та α -токоферолу ацетату в умовах експериментальної абсолютної інсулінової недостатності призводить до покращення показників вуглеводного обміну та зменшує інтенсивність процесів неферментативного глікозилювання. Антиоксиданти рексод та α -токоферолу ацетат чинять помірний антиатерогенний ефект у кролів із абсолютною інсуліновою недостатністю, поліпшуючи глюкозний гомеостаз, знижуючи концентрацію атерогенних ліпідів, збільшують активність параоксонази в сироватці крові, що сприяє зменшенню окислювальної модифікації ліпопротеїдів.

Ключові слова: рексод, антиоксидант, цукровий діабет, абсолютна інсулінова недостатність, ліпідний обмін.

Резюме

Деримедведь Л.В., Бухтиярова И.П. Влияние рексод на показатели липидного обмена в условиях экспериментальной инсулиновой недостатности.

Стаття посвящена фармакологічному обґрунтуванню целесообразности применения антиоксидантов природного происхождения в условиях абсолютной инсулиновой недостатности, вызванной введеннием дитизона. Установлено, что при применении α -токоферола ацетата и рексод в условиях экспериментальной абсолютной инсулиновой недостатности приводит к улучшению показателей углеводного обмена и уменьшает интенсивность процессов неферментативного гликозилирования. Антиоксиданты рексод и α -токоферола ацетат оказывают умеренный антиатерогенный эффект у кроликов с абсолютной инсулиновой недостатностью, улучшая глюкозный гомеостаз, снижая концентрацию атерогенных липидов, увеличивают активность параоксоназы в сыворотке крови, что способствует уменьшению окислительной модификации липопротеидов.

Ключевые слова: рексод, антиоксидант, сахарный диабет, абсолютная инсулиновая недостатность, липидный обмен.

Summary

Derymedvid L.V., Buchtyarova I.P. Effect on reksod on lipid's metabolism in experimental insulin deficiency.

This article is devoted pharmacological study the feasibility of application of antioxidants of natural origin in absolute insulin deficiency caused entered dytyzonu. Determined α -tocopherol acetate and reksod in the experimental that the application absolute insulin deficiency leads to the improvement of carbohydrate metabolism and reduces the intensity of nonspecific glycosylation. Antioxidants α -tocopherol acetate do antiatherogenous moderate effect in rabbits reksod and with an absolute lack of insulin, improving glucose homeostasis, reducing the concentration of atherogenic lipids, increase paraoksonazy activity in serum that helps reduce oxidative modification of lipoproteins.

Key words: reksod, antioxidant, diabetes, absolute insulin deficiency, lipid metabolism.

Рецензент: д. мед. н., проф. В.Д. Лук'яничук